

CARMEN LÚCIA DE OLIVEIRA PETKOWICZ

BIOPOLÍMEROS DA SEMENTE DE *Schizolobium*
amazonicum (PINHO CUIABANO):
galactomananas e arabinanas

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Bioquímica da Universidade Federal do Paraná, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Bioquímica.

CURITIBA

1993

BIOPOLÍMEROS DA SEMENTE DE

Schizolobium amazonicum

(PINHO CUIABANO):

galactomananas

e

arabinanas

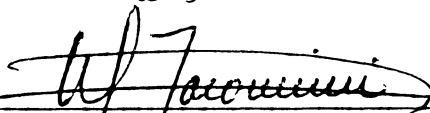
por

CARMEN LUCIA DE OLIVEIRA PETKOWICZ

Tese aprovada como requisito final para a obtenção do grau de Mestre em Ciências no
Curso de Pós-Graduação em Bioquímica da Universidade Federal do Paraná, pela comissão
formada pelos professores:


Dra. Fany Reicher - Orientadora


Dr. Philip Albert James Gorin


Dr. Marcello Iacomini

Orientadora: Prof^ª Dr^a Fany Reicher

AGRADECIMENTOS

A professora Dra. Fany Reicher por sua orientação, incentivo, amizade e dedicação que possibilitaram a realização desta tese

A professora Dra. Joana Lea M.S. Ganter pelas sugestões, análise de ^{13}C -n.m.r. e principalmente pela sua amizade e espírito de colaboração.

Ao professor Dr. Philip A.J. Gorin e ao Dr. Antônio Zenon A. Teixeira pelas análises de g.l.c. - m.s.

Ao professor Dr. Marcello Iacomini pelas análises de ^{13}C -n.m.r.

A professora Dra. Maria Rita Sierakowski pela colaboração.

A todos os colegas de laboratório pela amizade e colaboração.

Aos senhores Altino Nakamori e Paulo Roberto Janissek, LAC - Copel, que permitiram as medidas de deformação nos géis.

Ao engenheiro florestal Manoel Renato Machado e a EMBRAPA de Belém, pelas sementes de *Schizolobium amazonicum*.

Ao CERMAV - Centre de Recherche sur les Macromolécules Végétales - CNRS, França, pelas análises de ^{13}C -n.m.r., "light scattering" e H.P.L.C..

A Refinações de Milho Brasil pelas determinações de rotação ótica.

Ao professor Dr. Fábio Pedrosa, coordenador do Curso de Pós-Graduação, pela colaboração.

A equipe da Biblioteca do Setor de Ciências Biológicas pela sua assistência.

A todos os professores, pós-graduandos e funcionários do Departamento de Bioquímica pela colaboração e amizade.

Ao CNPq pelo suporte financeiro.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE SIGLAS	viii
ESQUEMAS DE EXTRAÇÕES	x
RESUMO.....	xi
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Arabinanas	2
1.2 Mananas	6
1.3 Galactomananas.....	14
1.4 <i>Schizolobium amazonicum</i>	31
2 OBJETIVOS	33
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
3.1- Métodos gerais.....	34
3.1.1- Hidrólises ácidas.....	36
3.1.2- Redução e acetilação dos produtos das hidrólises ácidas	36
3.2- Obtenção dos polissacarídeos	37
3.2.1- Obtenção dos polissacarídeos das sementes de <i>Schizolobium amazonicum</i> ..	37
3.2.1.1- Obtenção dos polissacarídeos do endosperma das sementes de <i>Schizolobium amazonicum</i> . . .	37
3.2.1.2- Obtenção dos polissacarídeos do tegumento das sementes de <i>Schizolobium amazonicum</i> . . .	37
3.2.2- Obtenção dos polissacarídeos do tegumento das sementes de <i>Cassia fastuosa</i>	37
3.3- Desproteínização do polissacarídeo E _I (galactomanana)	38
3.4- Oxidação do polissacarídeo E _I com trióxido de cromo ⁸¹	38
3.5- Gel permeação em Sepharose 4B	39
3.6- Oxidação com metaperiodato de sódio	39
3.7- Análises de metilação	40
3.7.1- Metilação do polissacarídeo E _I	40
3.7.2- Metilação de M	41
3.7.3- Metilação das frações SA _I , C _{II} e CA _{II}	41
3.8- Determinação da massa molecular do polissacarídeo E _I por "light scattering"	41
3.9- Germinação das sementes de <i>Schizolobium amazonicum</i>	42
3.10- Determinação de viscosidade	42
3.11- Interação com outros polissacarídeos	43
4- RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
4.1- Obtenção dos polissacarídeos	44
4.1.1- Obtenção e composição monossacarídica dos polissacarídeos do endosperma das sementes de <i>Schizolobium amazonicum</i>	44
4.1.2- Obtenção e composição monossacarídica dos polissacarídeos do tegumento das sementes de <i>Schizolobium amazonicum</i>	50

4.1.3- Obtenção e composição monossacarídica dos polissacarídeos do tegumento das sementes de <i>Cassia fastuosa</i>	54
4.2- Análise da fração E _I (galactomanana) do endosperma das sementes de <i>Schizolobium amazonicum</i> (pinho cuiabano)	54
4.3 - Análise de metilação e degradação de Smith do residuo M	67
4.4- Análise da arabinana do tegumento das sementes de <i>Schizolobium amazonicum</i>	70
4.5- Análise das arabinanas do tegumento das sementes de <i>Cassia fastuosa</i> (frações C _{II} e CA _{II})	72
4.6- Viscosidade da galactomanana E _I e capacidade de interação das galactomananas E _I e E _{IV}	77
5- CONCLUSÕES	83
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Filtração em Sepharose 4B (coluna 43x1,7 cm, d.i.) da galactomanana (fração E _I) de <i>Schizolobium amazonicum</i> eluída com água	58
Figura 2 -	Determinação da massa molecular da galactomanana de <i>Schizolobium amazonicum</i>	59
Figura 3 -	Espectro de ¹³ C-n.m.r. da galactomanana de <i>Schizolobium amazonicum</i> em óxido de deutério (D ₂ O), a 85°C e 75 MHz	63
Figura 4 -	Região do espectro de ¹³ C-n.m.r. da galactomanana E _I <i>Schizolobium amazonicum</i> de correspondente a C-4 de manose	66
Figura 5 -	Região de um espectro de ¹³ C-n.m.r. da galactomanana E _I de <i>Schizolobium amazonicum</i> correspondente a C-6 de manose	68
Figura 6 -	Espectro de ¹³ C-n.m.r. da arabinana do tegumento das sementes de <i>Schizolobium amazonicum</i> em NaOD 0,6N, a 40°C e 75MHz	71
Figura 7 -	Espectro de ¹³ C-n.m.r. da arabinana C _{II} do tegumento das sementes de <i>Cassia fastuosa</i> em NaOD 0,6N, a 40°C e 75MHz	74
Figura 8 -	Espectro de ¹³ C-n.m.r. - da arabinana CA _{II} do tegumento das sementes de <i>Cassia fastuosa</i> em NaOD 0,6N, a 40°C e 75MHz	76
Figura 9 -	Determinação da viscosidade intrínseca da galactomanana <i>Schizolobium amazonicum</i> (fração E _I), a 25°C, antes e após o tratamento de desproteínização por Sevag	78
Figura 10 -	Viscosidade relativa das soluções de galactomananas E _I , de xantana e de suas misturas em concentrações total de 1g/l, em água destilada, a 25°C, medida em viscosímetro capilar 0,5 mm modelo Ubbelohde ..	79
Figura 11 -	Viscosidade relativa das soluções de galactomanana E _{IV} , de xantana e de suas misturas em concentração total de 1g/l, em água destilada, a 30°C, em viscosímetro capilar nº 300	81

LISTA DE TABELAS

Tabela I -	Composição monossacarídica das frações obtidas por extrações aquosas e alcalinas sequenciais do endosperma das sementes de <i>Schizolobium amazonicum</i>	46
Tabela II -	Composição monossacarídica do endosperma total das sementes de <i>Schizolobium amazonicum</i> antes e após germinação	48
Tabela III -	Relação manose:galactose para diferentes espécies obtidas pela hidrólise do endosperma total	50
Tabela IV -	Composição monossacarídica das frações obtidas por extrações aquosas e alcalinas do tegumento das sementes de <i>Schizolobium amazonicum</i>	53
Tabela V -	Composição monossacarídica do tegumento total de diferentes espécies	54
Tabela VI -	Composição monossacarídica das frações obtidas por extrações aquosas e alcalinas do tegumento das sementes da <i>Cassia fastuosa</i>	56
Tabela VII -	Análise por metilações da galactomanana de <i>Schizolobium amazonicum</i> (fração E _I) na forma de acetatos de alditóis parcialmente metilados	60
Tabela VIII -	Composição molar de monossacarídeos em relação ao padrão interno de xilitol, durante a oxidação com trióxido de cromo da galactomanana de <i>Schizolobium amazonicum</i>	62
Tabela IX -	Atribuição dos sinais do espectro de ¹³ C-n.m.r. da galactomanana das sementes de <i>Schizolobium amazonicum</i>	64
Tabela X -	Análise por metilação da manana do endosperma das sementes de <i>Schizolobium amazonicum</i> na forma de acetatos de alditóis parcialmente metilados	69
Tabela XI -	Análise por metilação da arabinana do tegumento das sementes de <i>Schizolobium amazonicum</i> na forma de acetatos de alditóis parcialmente metilados	70
Tabela XII -	Análise por metilação das arabinanas C _{II} e CA _{II} do tegumento das sementes de <i>Cassia fastuosa</i> na forma de acetatos de alditóis parcialmente metilados	73
Tabela XIII -	Medidas de penetrabilidade em géis mistos galactomanana E _I - k-carragenana e galactomanana E _I - xantana, em concentração total de 1%	82

LISTA DE SIGLAS

$ \eta $	- viscosidade intrínseca
^{13}C -n.m.r.	- ressonância nuclear magnética de carbono-13
C	- concentração da solução
CHCl_3	- clorofórmio
CrO_3	- trióxido de cromo
CuSO_4	- sulfato de cobre
d.i.	- diâmetro interno
D_2O	- óxido de deutério
EtOH	- etanol
g.l.c.-m.s.	- cromatografia líquido-gasosa associada a espectroscopia de massa.
g.l.c.	- cromatografia líquido-gasosa
HPLC	- cromatografia líquida de alta eficiência
I.R.	- infra vermelho
K_{av}	- coeficiente de partição
K^1	- constante de Huggins
MD	- megadaltons
MHz	- mega Hertz
mm	- milímetros
Mn	- massa molecular numérica média
Mw	- massa molecular ponderal média
n	- viscosidade absoluta da solução polimérica
NaBH_4	- borohidreto de sódio
NaOD	- hidróxido de sódio deuterado
NaOH	- hidróxido de sódio
nm	- nanometros
n_o	- viscosidade absoluta do solvente
n_{red}	- viscosidade reduzida
n_{rel}	- viscosidade relativa

n_{sp}	- viscosidade específica
ppm	- partes por milhão
R_g	- raio de giração
R_{man}	- migração relativa à manose
R_t	- tempo de retenção relativa
t	- tempo de escoamento da solução
TFA	- ácido trifluoracético
t_o	- tempo de escoamento do solvente
Tr	- traço
V/V	- volume a volume
V_e	- volume de eluição da solução polissacarídica
V_o	- volume morto
V_t	- volume total da coluna

Principais frações posissacarídicas:

CA_{II}	- hemicelulose A do tegumento das sementes de <i>Cassia Fastuosa</i> , extraída com NaOH 4N.
C_{II}	- extração com água a 80°C do tegumento das sementes de <i>Cassia fastuosa</i>
E_I	- primeira extração aquosa do endosperma, a 25°C.
E_{II}	- segunda extração aquosa do endosperma, a 25°C
E_{III}	- primeira extração aquosa do endosperma, a 80°C.
E_{IV}	- segunda extração aquosa do endosperma, a 80°C.
E_V	- terceira extração aquosa do endosperma, a 80°C
M	- resíduo das extrações aquosas e alcalinas do endosperma.
SA_I	- hemicelulose A do tegumento das sementes de <i>Schizolobium amazonicum</i> , extraída com NaOH 2N.

ESQUEMAS DE EXTRAÇÕES

Esquema 1 - Extração dos polissacarídeos do endosperma das sementes de <i>Schizolobium amazonicum</i>	45
Esquema 2 - Extração dos polissacarídeos do tegumento das sementes de <i>Schizolobium amazonicum</i>	52
Esquema 3 - Extração dos polissacarídeos do tegumento das sementes de <i>Cassia fastuosa</i>	55

RESUMO

O *Schizolobium amazonicum* é uma árvore nativa da Região Amazônica. As extrações aquosas sequenciais do endosperma das suas sementes forneceram uma "família" de galactomananas com diferentes conteúdos de galactose. A fração de maior rendimento, 50% em relação ao endosperma, apresentou relação manose: galactose 3,0:1, 2,0% de proteína após desproteínização pelo método de Sevag e consiste de uma cadeia principal de unidades β -D-manopiranosose (1 \rightarrow 4) ligadas tendo unidades laterais de α -D-galactopiranosose ligadas (1 \rightarrow 6) ao longo da cadeia principal. A análise de ^{13}C -n.m.r. das regiões de C-4 e C-6 da manose sugere uma distribuição randômica das unidades de galactose. A viscosidade intrínseca do polímero é de 950ml/g e em misturas com k-carragenana e xantana mostra comportamento sinérgico. O resíduo das extrações aquosas e alcalinas do endosperma foi caracterizado por metilação e oxidação com periodato como uma manana verdadeira, consistindo de uma cadeia linear de manose (1 \rightarrow 4) ligada. O tegumento moído, após pré tratamento com benzeno-etanol (2:1 V/V) foi submetido a extrações aquosas e alcalinas. A extração alcalina forneceu uma arabinana, cuja análise de metilação, oxidação com periodato e ^{13}C -n.m.r. mostrou tratar-se de uma (1 \rightarrow 5) α -L-arabinofuranana. A presença de arabinanas foi investigada em sementes de outras espécies leguminosas, e o tegumento moído e deslipidificado das sementes de *Cassia fastuosa* forneceu por extração com água, a 80°C e NaOH 4N, a temperatura ambiente duas arabinanas.

1. INTRODUÇÃO

Uma nova planta formada por reprodução sexual inicia como um embrião dentro de uma semente. A semente desenvolve-se do óvulo fecundado, e quando madura, é o meio de dispersão da espécie. Assim, a semente ocupa uma posição crítica na história da vida de uma planta superior. O sucesso com o qual o novo indivíduo é estabelecido no tempo, e lugar, e o vigor da jovem planta é em grande parte determinado pelas características fisiológicas e bioquímicas da semente. A chave deste sucesso está nas respostas da semente ao meio e, num nível bioquímico, seus alimentos de reserva, disponíveis para sustentar a jovem planta nos estágios iniciais de crescimento, antes dela tornar-se um organismo independente, autotrófico. Além disso, para o homem, as sementes representam uma grande fonte de nutrientes. Cerca de 70% de todo o alimento para o consumo humano vem diretamente de sementes (principalmente de cereais e legumes)¹⁴.

Muitas sementes de plantas são usadas, já há alguns anos na extração de gomas que encontram várias aplicações na manufatura de produtos farmacêuticos, cosméticos, têxteis, assim como na indústria alimentícia. A importância biológica e econômica das sementes é portanto evidente^{14,55,153}.

A morfologia da semente é de grande importância na taxonomia, principalmente para a família leguminosae, onde as sementes possuem características bem marcantes¹⁴².

A maior parte do conhecimento relativo a cerca da composição química de sementes envolve sementes de espécies cultivadas. Porém, com o crescente interesse em novas fontes de alimentos e melhoramento genético, as sementes de plantas não cultivadas começam a receber mais atenção. A composição química de uma semente é determinada por fatores genéticos e varia amplamente entre espécies. Dentro de uma mesma espécie a composição pode apresentar variações que são o resultado de práticas agronômicas. Na maioria das sementes utilizadas na alimentação os constituintes predominantes são carboidratos, seguidos das proteínas^{14,39}.

O amido é o carboidrato de armazenamento encontrado com maior frequência nas sementes, mas é possível distinguir outros tipos de moléculas como mananas, galactomananas, glucomananas, xiloglucanas e outros que tem sido submetidos a análise estrutural. As estruturas de depósitos quantitativamente menores de carboidratos, como por exemplo, as arabinanas tem recebido pouca atenção^{142,14}.

1.1 - Arabinanas

Comparadas com outros polissacarídeos de parede celular, as arabinanas tem sido pouco estudadas, e o número de homoglicanas deste tipo é reduzido¹⁶⁸.

As arabinanas podem ser obtidas de diversas fontes como sementes^{121,161,191}, frutos¹⁷⁷, raízes^{7,91,181}, madeira¹⁶⁸, casca de caule⁹² e de galhos^{89,95} e tubo polínico¹³³ de diferentes espécies vegetais.

A presença de arabinanas já foi constatada em espécies das famílias Cruciferae, Papilionaceae, Rutaceae, Rhamnaceae, Myrtaceae, Salicaceae, Rosaceae, Pinoceae e Leguminosae. Em geral, as arabinanas estão associadas a polissacarídeos pécticos. Alguns autores questionam a existência de arabinanas puras e acreditam que elas sejam fragmentos de grandes complexos pécticos^{89, 168,191}.

Na realidade, parece que as arabinanas de origem vegetal podem ser classificadas em dois grupos. O primeiro incluiria aquelas associadas com pectinas e supostamente liberadas por degradação alcalina durante o processo de extração ou purificação. O segundo grupo seria formado por arabinanas puras de ocorrência natural^{121,161}.

Estruturalmente as arabinanas consistem de cadeias de unidades α -L-arabinofuranosídicas unidas por ligações do tipo 1 \rightarrow 5, altamente ramificadas, podendo ter substituições simples ou dupla nas posições 2 e/ou 3 por unidades de α -L-arabinose¹⁶⁸.

As arabinanas são os únicos polissacarídeos de parede celular cujos monômeros se encontram na forma furanosídica⁴ embora, ocasionalmente possam apresentar uma pequena proporção de unidades arabinopiranosídicas^{27,89,171}. Em todos os casos a proporção de unidades de arabinose na forma piranosídica representa um pequeno percentual do total de unidades na forma furanosídica. Além disso as unidades piranosídicas aparecem somente na posição de extremidade não redutora, o que conduz a hipótese de que estas unidades possam ser artefatos que surgem durante o processo de metilação⁹¹. Janson e Lindberg⁸⁸ demonstraram que no tratamento de metil α -L-arabinofuranosídeos com alcali, algumas unidades α -L-arabinopiranosídeos são formadas. A quantidade de formas piranosídicas formadas nestas condições seria superior a 2%. O mecanismo proposto para este rearranjo envolve um ataque nucleofílico do O-2 sobre C-1, rompendo a ligação entre C-1 e o oxigênio do anel e formando um epóxido. O grupamento epóxido é rapidamente aberto nas condições de reação, e então O-5 por reação intramolecular liga-se a C-1 formando o anel de 6 membros. Consequentemente qualquer rearranjo tautomérico ocorreria nas unidades terminais de uma arabinana e não em unidades internas onde o anel furanosídico está "protegido" pelo envolvimento nas ligações 1 \rightarrow 5⁹¹.

Joseleau et al⁹¹. investigaram a possibilidade da formação de piranosídeos a partir de α -L-arabinofuranosídeos sob as condições utilizadas durante a metilação pelo método de Hakomori. Esta situação representa uma condição menos drástica do que aquela empregada por Janson e Lindberg⁸⁸ que utilizaram NaOH 2,65M durante 10h a 170°. Um padrão de metil α -L-arabinofuranosídeo foi utilizado para metilação, e após foi checada a presença de formas piranosídicas acompanhando o furanosídeo permetilado. Utilizando análise por g.l.c-m.s. e monitorando os íons com m/z 45, 101 e 117 foi possível diferenciar e quantificar os derivados 2,3,4 e 2,3,5 trimetil pentitol. Eles encontraram que a proporção de piranosídeo que pode ter sido formada nesta situação foi inferior a 1%. Em alguns casos uma evidência adicional da ausência de unidades arabinopiranosídicas é a falta no espectro de ¹³C-n.m.r., do sinal a 105 ppm, onde seria esperada a ressonância de C-1 para uma unidade α -L- piranosídica.

Estudando a composição do embrião das sementes de mostarda branca (*Sinapis alba*). Hirst et al. isolaram uma arabinana neutra, de estrutura bastante ramificada como mostram os dados de metilação: L-Ara; 2Me-Ara ; 2,3 Me₂-Ara e 2,3,5 Me₃-Ara numa proporção molar de 2:11:6:12, indicando uma estrutura típica de "arabinana péctica", onde a presença do derivado L-ara indica a existência de unidades de arabinose di-substituídas.⁸⁰

Mais tarde, Rees e Richardson¹³⁷ fazendo uma comparação estrutural entre esta arabinana e aquela extraída de beterraba, que é um produto de degradação de um complexo péctico, comprovaram que a arabinana das sementes de mostarda não provém da degradação de heteropolissacarídeos maiores. Polissacarídeos deste último tipo usualmente contém outros açúcares além de arabinose, o que é uma consequência do tipo de reação pelo qual são formadas, sendo liberadas do esqueleto de galacturananas por β eliminação em algumas unidades metil-esterificadas do ácido galacturônico. A arabinana obtida da beterraba contém 5% de ácido galacturônico e 13,5% de outros açúcares.

As arabinanas de diferentes remessas de sementes de mostarda, e extraídas em diferentes valores de pH foram todas homogêneas e de comportamento semelhante na ultracentrifugação e eletroforese na forma de complexo com borato, o que confirmou que este polissacarídeo não era um artefato de degradação¹³⁷.

As arabinanas do cotilédone da mostarda branca, antes e após germinação, mostraram diferenças quanto a estrutura e rendimento. Na germinação, a arabinana diminuiu em quantidade e torna-se menos ramificada. Mudanças análogas tem sido observadas em outras substâncias pécticas de cotilédones de mostarda. Estas alterações indicam que o papel das arabinanas e outros polissacarídeos de parede celular na

germinação talvez esteja associado a correspondente mudança no papel da parede celular, que passa de um estado de repouso, onde as células desidratadas requerem pouca resistência mecânica, a um estado ativo, onde há necessidade de uma resistência maior da parede devido ao intumescimento dos cotilédones. O decréscimo no grau de ramificação da arabinana seria para torná-la mais capaz de apresentar interações secundárias ou "entanglements", e assim aumentar sua capacidade de conferir rigidez a parede celular.

A diminuição na quantidade da arabinana durante a germinação estaria relacionada a um "turnover" de substâncias da parede celular. Parece ocorrer síntese de polissacarídeos pécticos no começo da germinação, mas como não há divisão celular, nem aumento na quantidade total de polissacarídeos esta síntese estaria associada ao "turnover" das substâncias existentes na parede celular¹³⁷.

Uma outra hipótese que explicaria o decréscimo na quantidade de arabinanas dos cotilédones da mostarda, bem como a diminuição no grau de ramificação seria a possibilidade de que estes polissacarídeos sejam heterogêneos com respeito os graus de ramificação e que as moléculas mais ramificadas sejam seletivamente e completamente metabolizadas durante a germinação¹³⁸.

Os resultados de um estudo sobre os polissacarídeos da parede celular de tubo polínico de *Nicotiana alata* germinada "in vitro" indicaram a presença de uma 1→5- α -L-arabinana que apresenta ramificações em O-2. A anomericidade e a configuração absoluta das unidades de arabinose foram determinadas por ligação específica de um anticorpo monoclonal α -L-arabinofuranosil-dirigido.

Por microscopia de transmissão eletrônica dos tubos polínicos desta espécie foi possível verificar que a presença da arabinana está limitada a camada externa da parede, que é de duplacamada, tanto em tubos polínicos crescendo "in vivo" como "in vitro". A microscopia de transmissão eletrônica de uma série de tubos polínicos de diferentes espécies mostrou em todos os casos uma parede de duas camadas e arabinanas semelhantes a de *Nicotiana alata* talvez sejam de ocorrência geral na camada externa da parede de tubos polínicos¹³³.

Da casca interna do caule de *Rosa glauca* foram isoladas duas arabinanas solúveis em água com as mesmas características estruturais de outras arabinanas de fontes vegetais, isto é, estruturas altamente ramificadas consistindo de unidades de α -L-arabinofuranose unidas por ligações (1→5), (1→3) e (1→2). Algumas unidades de arabinose estando envolvidas em ramificações pelas posições 2 e 3. As arabinanas de *Rosa glauca* diferem no grau de polimerização: 100 e 34, respectivamente. Assim como há diferenças no grau de ramificação. A arabinana de D.P. 34 apresenta uma proporção maior de unidades não ramificadas. O fato de duas arabinanas estruturalmente semelhantes, mas não idênticas terem sido isoladas

da casca de *Rosa glauca* é uma demonstração da heterogeneidade dos polissacarídeos presentes em plantas, que poderia originar-se da grande diversidade nos tipos de células que constituem os tecidos do floema. As características estruturais destes polissacarídeos podem assim ser encaradas como o caráter médio de uma família de polímeros resultantes de um mais ou menos amplo espectro de entidades. Esta é uma interpretação que poderia explicar porque frações ligeiramente diferentes podem ser obtidas durante o processo de isolamento sob condições pouco diferentes⁹².

Dos cotilédones de *Cajanus cajan* também foram isolados duas arabinanas. Ambas bastante ramificadas e uma delas apresentando unidades terminais na forma piranosídica como indicam os dados de metilação: 2,3,5-Me₃-;2,3-Me₂-;2-Me-;3-Me-arabinose e arabinose livre numa relação molar de 1:0:3,5:0,2:1,0:0,6 e 0,9:0,5:3,5:0,2:1,0:0,3 para as arabinanas I e II, respectivamente¹⁷¹.

A arabinana isolada do endosperma de *Vigna sinensis* por extração com ácido tricloroacético 10% consiste de uma cadeia principal de unidades arabinofuranosídicas unidas por ligação do tipo 1→5 com algumas unidades envolvidas em ramificações pelas posições O-2 e/ou O-3. A possibilidade de que esta arabinana seja um produto de degradação derivado da extração com TCA foi eliminada pelo fato de que uma pectina comercial e uma arabinogalactana por tratamento semelhante (TCA 10%, 4°C, por 6h) não apresentaram nenhum produto de degradação no extrato¹²¹.

O tratamento da madeira de pinho marítimo (*Pinus pinaster*) com água fervente forneceu uma mistura de onde foram isolados quatro tipos de polissacarídeos, entre eles uma arabinana. A única arabinana de madeira já estudada é a de pinho marítimo, embora existam indicações da ocorrência de arabinanas em várias outras madeira de coníferas^{89,176}.

Uma L-arabinana linear foi obtida de uma amostra de um suco de maçã comercial. O polissacarídeo linear, consiste de unidades de α-L-arabinose, (1→5) ligadas. Apesar desta estrutura contrastar com as estruturas usuais de arabinanas de plantas, que tem alto grau de substituição, é possível que esta arabinana tenha sido produzida a partir de polissacarídeos mais complexos por degradação ou ação enzimática. Esta última possibilidade é bastante provável em vista da natureza do processo industrial empregado. Na preparação de sucos de maçã são utilizados pectinases, que despolimerizam as moléculas de pectina com o objetivo de evitar a turbidez destes sucos. Estas pectinases contêm arabinosídeses que retiram as cadeias laterais das arabinanas ramificadas, originalmente presentes na polpa de maçã^{34,130}.

Do tegumento das sementes de guapuruvu (*Schizolobium parahybum*) foi isolada, no Laboratório de Química de Carboidratos Vegetais do Departamento de Bioquímica-UFPR, por extração alcalina,

uma (1→5) α -L-arabinofuranana. Por extração com dimetil sulfoxido o mesmo polissacarídeo foi obtido. No caso do guapuruvu,, a arabinana linear é provavelmente um componente natural do tegumento das sementes, já que a extração alcalina foi realizada na presença de boroidreto de sódio, e por extração com dimetil sulfoxido o mesmo polissacarídeo foi obtido. Além disso uma etapa precedente às extrações dos polissacarídeos envolveu a inativação de enzimas. Uma fração alcalina extraída do endosperma mostrou também a presença de arabinose, indicando a possibilidade da ocorrência de uma arabinana também no endosperma das sementes de guapuruvu¹⁹¹.

A ocorrência de arabinose em frações extraídas do endosperma de leguminosas já havia sido descrita anteriormente. Nas frações extraídas do endosperma das sementes de *Gleditsia triacanthos* foi observada a presença de arabinose, embora neste caso tenha sido sugerido que a arabinose seria um componente da galactomanana, estando ligada a ela em cadeias laterais¹¹⁰.

1.2- Mananas

Nos vegetais, as mananas podem ser encontradas principalmente em parede celular ou endosperma de sementes maduras de plantas não leguminosas, e podem ter funções estrutural ou de reserva^{168,183}.

Todas as mananas de fontes vegetais contém cadeias lineares de unidades β -D-manose unidas por ligações 1→4. Mananas β -D(1→4) ligadas também são encontradas como constituintes de parede celular de muitas algas verdes e de algumas algas vermelhas¹⁹³.

A parede celular de muitas leveduras apresenta mananas ligadas covalentemente a proteína, onde representam um componente estrutural. Neste caso as α -D-manopirananas são predominantes, exibindo uma variedade de tipos de ligações, tanto em estruturas lineares como ramificadas. Um pequeno número destas mananas ramificadas apresenta unidades β -D-manopiranose nas cadeias laterais. Mananas fosforiladas também podem estar presentes na parede celular de certas leveduras⁶⁸.

A levedura *Rhodotorula glutinis* produz uma manana extracelular que apresenta ligação β (1→3) e β (1→4) ⁶⁹.

Em particular, mananas α -D-(1→3) ligadas são encontradas como cadeia principal de heteropolissacarídeos ramificados em certos cogumelos comestíveis¹⁹⁴.

São consideradas mananas verdadeiras, aqueles polissacarídeos que contém 95% ou mais de unidades D-manose, embora alguns autores estabeleçam este limite em 85%^{6,168}

Por razões termodinâmicas, uma β -D-(1 \rightarrow 4)-manana, em solução, deve adotar uma conformação tipo "fita estendida", onde os grupos alcoólicos primários projetam-se alternadamente para ambos os lados da cadeia linear. Tais polissacarídeos são caracterizados pela eficiência de suas pontes de hidrogênio e concomitante perda de solubilidade em água^{136,168}.

A formação de complexos insolúveis de mananas com íons bário tem sido proposta como um eficiente método de fracionamento na obtenção destes polissacarídeos. A formação destes complexos provavelmente se deva a reação dos grupos hidroxílicos vicinais em posição cis dos átomos de carbono 2 e 3 das unidades de manose. Estes complexos são precipitados de soluções aquosas pela adição de pequenas quantidades de hidróxido de bário. Os reagentes de Fehling e "Cetavlon" também são utilizados para a purificação de mananas^{7,120}.

São frequentemente referidas dificuldades na hidrólise de mananas e parece que o ácido fórmico é o mais efetivo para estes polissacarídeos. Também a análise de periodato e a metilação destes polímeros apresentam dificuldades. A completa metilação exige em alguns casos até 15 procedimentos^{7,8,33,90,106,166}.

As mananas mais conhecidas ocorrem como principal componente de sementes da família Palmae, divisões Phytelphantoideae e Phoenicoideae. Na germinação, estes polissacarídeos, presentes no endosperma como depósito de reserva, desaparecem^{3,168,184}.

No estudo da mobilização da manana das sementes de *Phoenix dactylifera* as enzimas responsáveis pela hidrólise deste polissacarídeo foram identificadas, ser uma β -mananase e uma β -manosidase¹⁴².

A primeira manana de vegetal a ser estudada foi a do endosperma das sementes da palmeira tagua palma (*Phytelphas macrocarpa*) comumente referida como marfim vegetal ou "ivory nut"⁶. As sementes desta palmeira, que é nativa da América do Sul e tem o tamanho de um ovo de galinha, consistem quase que inteiramente de endosperma^{37,39,6}.

Os primeiros estudos sobre a constituição do endosperma desta semente foram feitos por Reiss e publicados em 1889. Ele verificou que por hidrólise, o principal componente em açúcar era a manose. Estudos posteriores mostraram que por extração alcalina, o polissacarídeo que se obtinha era uma manana.

Em resultados publicados em 1927 Ludtke mostrou a existência de duas mananas obtidas das sementes delignificadas de "ivory nut". A manana A, solúvel em solução aquosa de hidróxido de sódio e a manana B, insolúvel⁷. A manana A constitui 45% do endosperma desta semente, enquanto a manana B representa 25%^{7,175}.

Aspinall et al.⁷ isolaram as mananas A e B e investigaram suas composições e estruturas. A

manana A foi extraída diretamente com álcali, e após hidrólise mostrou consistir de 97,6% de D-Man, 1,8 de D-Gal e 0,8% de D-Glc. Enquanto a manana B, que não pode ser extraída diretamente, foi separada da celulose por precipitação de uma solução de cobre amoniacal, e apresentou 98,3% de D-Man, 1,1% de D-Gal e 0,8% de D-Glc. A análise de metilação forneceu para as mananas A e B: 2,3,4,6-Me₄-Man; 2,3,4,6-Me₄-Gal; 2,3,6-Me₃-Man; 2,3,4-Me₃-Man; 2,3-Me₂-Man, nos percentuais de 7,3:1,7:83,0:6,8:1,2 e 1,3:1,3:81,8:14,3:1,7, respectivamente. Apesar destes resultados indicarem a presença de unidades de manose ligadas 1→6, dados posteriores do estudo de oligossacarídeos provenientes de hidrólise ácida parcial não confirmaram a presença de ligações 1→6 nas mananas A e B. Foi sugerido que a presença de derivados tetrametil manose e tetrametil galactose, aliada a ausência de quantidade significativa de açúcar dimetilado seria devido a presença de dois tipos de moléculas terminadas por manose ou galactose. Assumindo que todas as cadeias sejam lineares, terminadas por D-Man ou D-Gal, a análise de metilação fornece comprimentos médios de cadeia de 10-13 unidades para a manana A e 38-40 para a manana B. Por outro lado, assumindo que todas as cadeias sejam terminadas por unidades D-Man, e que as unidades D-Gal estejam ligadas como cadeias laterais, os valores para os comprimentos médios de cadeia são 12-16 e 75-80, respectivamente. Além da análise de metilação, uma evidência adicional do tipo de ligação nas mananas A e B veio do isolamento de manobiose, manotriose e homólogos superiores β-D-(1→4) ligados, como principais produtos da hidrólise ácida parcial destes polissacarídeos. Pequenas quantidades de oligossacarídeos contendo unidades de α-D-Man também foram isoladas. A análise de amostras controle de manose, manobiose e manotriose submetidas as mesmas condições de hidrólise que as mananas A e B não indicou que as unidades de Man α-D-(1→4) ligadas possam ter se formado por reversão ou anomerização da ligação glicosídica durante a acetólise^{6,7,8}.

Alguns oligossacarídeos contendo glucose foram obtidos na hidrólise ácida parcial das mananas de "ivory nut", mas os autores consideraram sua importância estrutural duvidosa, uma vez que as unidades de glucose possam ter sido formadas por epimerização de unidades de manose⁸.

Apesar de não estarem completamente definidas as estruturas finas das mananas A e B, parece que elas não diferem em suas estruturas químicas, diferindo apenas em seus graus de polimerização^{6,7,8}.

Timell¹⁷⁵ sugeriu que nas extrações das mananas de "ivory nut", o pré-tratamento delignificante com clorito de sódio poderia ter influência no grau de polimerização destes polissacarídeos. Porém, Meier¹¹⁹ realizando determinações de DPs para amostras de mananas provenientes de materiais com e sem pré-tratamento encontrou nos dois casos valores de DPs semelhantes.

Os valores de DP calculados por Timell, 5-7 para a manana A e 300-1200 para a manana B foram calculados utilizando determinações de viscosidade. Os valores obtidos por esta técnica são considerados menos confiáveis do que aqueles obtidos por Aspinall⁷ por análise de metilação. Além disso, no caso da manana B, a fração utilizada continha considerável quantidade de celulose contaminante o que deve ter influenciado nas determinações viscosimétricas. A presença da celulose nesta amostra explicaria o alto valor de DP encontrado por Timell¹¹⁹.

Medidas osmométricas para as mananas A e B nitradas forneceram valores de DPs de 17-21 e 80, respectivamente. Estes valores são próximos àqueles determinados por Aspinall considerando a galactose como ramificação na cadeia de manose^{6,7,119}.

O resíduo da extração com KOH 24%, α -celulose, em geral consiste quase que totalmente de celulose. Nas sementes de *Melampyrum lineare* (Scrophulariaceae), a α -celulose provavelmente contenha uma manana. O papel da manose na parede celular destas sementes não é conhecido, assim como não é conhecido se a manose está associada aos outros açúcares presentes ou se ocorre como um homopolímero.

Os teores de manose na α -celulose das sementes maduras e não maduras de *Melampyrum lineare*, 74,4 e 73,2, respectivamente, são próximos. Entretanto, os autores⁴⁰ consideram que esta diferença possa indicar que, pelo menos, parte da manana seja depositada durante estágios avançados de desenvolvimento da semente.

O endosperma de sementes verdes de algumas espécies da família Palmae contém galactomananas, ao passo que, as sementes maduras de todas as espécies desta família que foram estudadas, consistem de mananas contendo apenas uma pequena proporção de unidades de galactose. Para Kooiman¹⁰⁰, isto pode sugerir que a maior parte das unidades de galactose seja removida durante a maturação destas sementes, resultando em uma parede celular que é muito menos sujeita a inchamento e dissolução em água. Este processo ocorreria concomitantemente com a transição do endosperma da fase hidratada, gelatinosa, para a fase desidratada na maturidade¹⁴⁹.

A extração sequencial com água NaOH 1N e NaOH 4,5N das sementes da palmeira *Borassus flabellifer* em diferentes estágios de maturidade forneceu galactomananas e mananas. As extrações com água e NaOH 1N forneceram galactomananas, enquanto que a extração com NaOH 4,5N forneceu uma β -(1 \rightarrow 4)-D-manana. Com a maturidade a proporção das duas primeiras diminui de 32% para 4%, enquanto que o percentual da última elevou-se de 3% para 30%. O enriquecimento gradual no conteúdo de manana destas sementes com a maturidade é considerado ser altamente significativo, embora persista o

questionamento, se tal acréscimo seria as custas da galactomanana ou síntese independente¹³⁴.

Do endosperma das sementes de *Erythea edulis* (Palmae) por extração alcalina foi isolada uma manana, cujo conteúdo de galactose foi de 1 a 1,6%. Estudos envolvendo hidrólise ácida parcial e metilação mostraram que esta manana é semelhante àquela da *Phytelephas macrocarpa*. Este polissacarídeo consiste de uma cadeia principal de unidades β -D-manopiranosose ligadas (1 \rightarrow 4), onde a cada 11 unidades de manose uma delas está ramificada em 0-6, podendo estar substituída por manose ou galactose¹⁴⁹.

A presença da galactose nas mananas de Palmae é um ponto ainda não completamente elucidado. Para confirmar sua presença na manana Robie e Percheron¹⁴⁹ utilizaram α -galactosidase de lucerne, podendo constatar a liberação da galactose e sua ligação covalente ao polissacarídeo. A galactose ocupando uma posição terminal na extremidade não redutora na cadeia de manose poderia constituir um sinal de parada no momento da biossíntese do polissacarídeo¹⁴⁹.

Uma outra hipótese seria que a galactose fizesse parte de um polissacarídeo contaminante, presente no tegumento das sementes. A hidrólise ácida do tegumento das sementes de *Erythea edulis* fornece pequena quantidade de galactose¹⁴⁹.

Na investigação da composição das sementes das palmeiras *Iriartea ventricosa*¹⁶⁶, *Phoenix canariensis*¹²⁷ e *Hyphaene thebaica*⁵⁴ também foi constatada a presença de β -D-(1 \rightarrow 4) mananas como polissacarídeos de reserva.

O polissacarídeo bruto do endosperma das sementes de *Carum carvi* (Umbelliferae) consiste de 90,4% de manose, assemelhando-se ao polissacarídeo bruto isolado do endosperma de *Phoenix dactylifera* (Palmae), que contém 90,2% de manose. O polissacarídeo do endosperma de *Carum carvi* foi separado em uma fração solúvel e outra insolúvel em NaOH 14%. O polissacarídeo solúvel em álcali continha somente 60% de manose diferindo das mananas de palmáceas. O polissacarídeo insolúvel em álcali, consistiu de 93,8% de manose. Após a incubação desta fração com uma mistura de enzimas (cellulysin e macerase), para eliminar a contaminação por polissacarídeos do tegumento, a quantidade de manose elevou-se para 97,1%, igualando-se aos percentuais descritos para a manana B do endosperma de *Phytelephas macrocarpa* e *Phoenix dactylifera*.

Para caracterizar a estrutura química das mananas de *Carum carvi* foi feita uma hidrólise ácida parcial e seus produtos foram comparados com aqueles obtidos para as mananas de *Phytelephas macrocarpa*. Foi isolada uma série homóloga de mano-oligossacarídeos, incluindo desde manobiose a manopen-tose, semelhante aos produtos da acetólise parcial das mananas da *Phytelephas macrocarpa*.

Os mano-oligossacarídeos isolados foram incubados com α -manosidase, permanecendo inalterados e assim confirmando a anomericidade β das unidades destas mananas.

Em adição a série homóloga de mano-oligossacarídeos, dois dissacarídeos não homólogos foram encontrados entre os produtos da hidrólise ácida parcial da fração insolúvel em álcali. De acordo com a sua composição monossacarídica e sensibilidade a α -manosidase estes dissacarídeos provavelmente sejam 4-0- α -D-manopiranosil-D-manose e 4-0- β -D-manopiranosil-D-glucose, que também haviam sido identificados por Aspinall⁸ nos hidrolisados das mananas A e B.

A incubação dos polissacarídeos de *Carum carvi* e *Phoenix dactylifera* com uma enzima bruta, preparada das sementes em germinação de ambas as espécies, resultou em uma mistura de mano-oligossacarídeos com os mesmos valores de R-manose do que os obtidos para os produtos da hidrólise ácida parcial. Os resultados sugerem que, apesar da diferença taxonômica entre estas duas plantas, elas apresentam mananas quimicamente semelhantes⁸⁴.

A ocorrência de mananas em algas gerou interesse pela conexão que poderia ter com a origem do ácido alginico, considerando-se que o ácido polimanurônico poderia surgir de uma manana. Foi isolado da alga verde *Phorphyra umbilicalis* uma β -D-(1 \rightarrow 4) manopiranosil-D-glucose conforme os dados de metilação que indicaram a presença de 2,3,6-Me₃-D-Man e 2,3,4,6-Me₄-D-Man. Por outro lado, dados obtidos por oxidação com periodato forneceram uma produção de ácido fórmico correspondente a presença de 6% de grupos terminais, indicando que o polissacarídeo apresentaria um ponto de ramificação a cada 12 unidades de manose. A possibilidade de tratar-se de uma mistura de polissacarídeos não foi excluída. Apesar da similaridade das estruturas, foi considerado improvável que o polissacarídeo isolado fosse o precursor do ácido alginico⁹⁰.

Uma investigação preliminar sobre a constituição da parede celular de espécies de algas verdes *Codium*, *Acetabularia* e *Halicoryne*, indicou a presença de mananas (1 \rightarrow 4) ligadas. Posteriormente Love e Percival por extração alcalina da alga *Codium fragile* isolaram uma manana composta de 95% de manose e 5% de glucose. Embora o polissacarídeo metilado não tenha fornecido nenhum derivado de glucose metilado, os resultados de metilação e oxidação com periodato indicam tratar-se de uma β -(1 \rightarrow 4) manana linear, contendo possivelmente uma pequena proporção de unidades de glucose (1 \rightarrow 4) ligadas¹⁰⁶.

A observação de que mananas são mais solúveis em hidróxido de sódio do que em hidróxido de potássio foi utilizada por Dutton e Hunt⁵³ na obtenção da manana da madeira de abeto (*Picea sitchensis*). Este fato também foi explorado no isolamento da manana do grão de café (*Coffea arabica*). Neste caso a

fração de holocelulose, insolúvel em hidróxido de potássio 10%, consistindo de 58% de D-manose foi extraída com hidróxido de sódio 18%. Por acidificação a pH 5 desta porção solúvel, uma manana contendo 94% de manose foi precipitada. Esta β -D-(1 \rightarrow 4) manana apresentou um DP de 45 e peso molecular de 7300, determinado pelo método do equilíbrio de sedimentação. Esta manana representa 5% do peso seco do grão de café.¹⁸⁸

Das raízes de várias espécies de orquídeas é extraída com água, uma mucilagem que consiste somente de D-manose, sendo normalmente referidas como "salep mannan"^{6,164,184}. Parece não haver diferença na estrutura química entre as β -D-(1 \rightarrow 4) mananas do grão de café, "ivory nut", "salep", algas e provavelmente de outras fontes. A única diferença entre estas mananas seria no comprimento da cadeia, onde a "salep mannan" é a de maior DP, 1340¹⁸⁸.

Estudos sobre a morfologia microscópica e submicroscópica da parede celular do endosperma de "ivory nut" mostraram que a manana A ocorre na forma de grãos cristalinos de diâmetro de 100 a 200Å, enquanto a manana B tem estrutura microfibrilar. As estruturas submicroscópicas destas mananas quando isoladas e purificadas foram um pouco diferentes daquelas no estado nativo. A manana A foi composta de pequenos cristais, mais ou menos cúbicos e a manana B não apresentou estrutura fibrilar. Os diagramas de difração de raio-x destes polissacarídeos nativos e extraídos, indicaram que a manana A é cristalina no estado nativo e também após dissolução e reprecipitação, porém com diferentes padrões de cristalinidade. Já, a manana B mostrou-se amorfa tanto no estado nativo como após isolamento¹¹⁹.

No caso de mananas de algas, condições brandas na extração permitiram observar por microscopia eletrônica regiões microfibrilares além das regiões granulares presentes em maior proporção¹⁹³.

Por analogia com a celulose, a estrutura microfibrilar da manana de "ivory nut" deveria implicar em cristalinidade, por raios-x. A estrutura amorfa por difração de raios-x poderia ser explicada pela possível presença de algumas ligações (1 \rightarrow 6) na cadeia da (1 \rightarrow 4) manana¹¹⁹.

Devido a similaridade dos padrões de difração de raios-x da celulose e β -(1 \rightarrow 4)-mananas, é proposto que ambas possuem o mesmo tipo de fibra repetitiva, porém as mananas tem peso molecular consideravelmente menor e suas microfibrilas são muito mais sensíveis a tratamentos físicos e químicos do que aquelas da celulose^{111,193}. O comportamento das mananas A e B de "ivory nut" contradiz a generalização de que os polissacarídeos amorfos seriam mais facilmente extraídos da parede celular, enquanto que os extraídos com dificuldade seriam cristalinos^{111,119,193}.

As formas polimórficas das mananas de parede celular, nativa e tratada com álcali foram

chamadas de manana I e II, em analogia com as formas polimórficas I e II da celulose. Nas mananas de "ivory nut" e de algas, o componente microfibrilar, álcali-resistente corresponde a manana II, e o componente granular, solúvel em álcali consiste da manana I. Uma possível interpretação para estes resultados sugere que o componente granular da manana I serviria como substância incrustante, semelhante a hemicelulose em paredes celulósicas, enquanto as microfibrilas da manana II corresponderiam a celulose.

Estudos sobre o comportamento de recristalização das mananas de "ivory nut" demonstraram que a formação de cristais tanto da manana I como da manana II depende de três fatores: a temperatura de cristalinização, a polaridade do meio de cristalinização e do comprimento da cadeia polissacarídica.

Altas temperaturas, baixa polaridade e comprimento de cadeia pequeno favorecem a formação da manana I, ao passo que baixas temperaturas, alta polaridade e cadeia longa resultam na segunda forma polimórfica¹⁹³.

Chanzi et al.³⁰ por precipitação com butanol aquoso prepararam cristais de mananas do tipo I de várias origens, assim como glucomananas, verificando que as constantes estruturais, independente da relação glucose/manose, permanecem relativamente invariáveis, sugerindo formas isomórficas.

Análises sobre a conformação de $\beta(1\rightarrow4)$ D-mananas em solução utilizando dados de rotação ótica indicaram uma flexibilidade da geometria de ligações extremamente restrita, conforme já havia sido evidenciado em alguns estudos de modelagem. Entretanto, comparada a celulose, as cadeias de β -D-(1 \rightarrow 4)-mananas são mais flexíveis, devido a diferença na configuração de C-2 no anel de manose⁵².

Os polímeros chamados "konjak mannan" e "iles mannan", extraídos das raízes das espécies *Amorphophallus konjak* (ou *Amorphophallus tuberosus*) e *Amorphophallus oncophyllus* são na realidade glucomananas contendo respectivamente cerca de 60 e 70% de unidades β -D-manopiranosose (1 \rightarrow 4) ligadas e 40 e 30% de unidades β -D-glucopiranosose, intercaladas entre as unidades de manose, também (1 \rightarrow 4) ligadas. Estes polissacarídeos apresentam ainda um grupo acetil a cada dez unidades de açúcar^{3,6,42,164,184,193}.

Mananas podem ocorrer associadas com celulose de madeira, embora não se tratando necessariamente de homopolímeros de manose. Da polpa sulfite de pinho foi isolada uma manana com diagrama de raios-x e rotação ótica, $[\alpha]_{\text{NaOH}1\text{N}} = -44^\circ$, idêntico ao da manana A de "ivory nut". Este valor de rotação ótica também é próximo ao de outras mananas conhecidas: $[\alpha]_{\text{NaOH}15\%} = -38,2^\circ$, para a manana B de "ivory nut"; $[\alpha]_{\text{NaOH}1\text{N}} = -35^\circ$, para a "salcp mannan"; $[\alpha]_{\text{NaOH}18\%} = -48^\circ$, para a manana de *Borassus flabellifer* e $[\alpha]_{\text{anidrido fórmico}} = -41^\circ$ para a manana de *Porphyra umbilicalis*^{131,134}.

McCleary e Matheson¹⁷⁴ citam a obtenção de uma manana das sementes de *Archontophoenix cunninghamiana* (Palmacea), cuja hidrólise fornece apenas manose e que possui rotação ótica $[\alpha]_{\text{NaOH 1N}} = -45,5$, também semelhante a da manana A de "ivory nut".

Uma manana predominantemente α , apresentando uma rotação ótica específica de $+82^\circ$ foi isolada do fungo *Polyporus borealis*. Este polissacarídeo parece ser formado por uma cadeia de unidades α -D-manopiranosose unidas por ligações (1 \rightarrow 2) e (1 \rightarrow 3), alternadamente, possuindo ramificações de unidades α -D-manopiranosose na posição 6¹⁷.

Uma manana, de ocorrência natural, foi testada, com bom desempenho, na cobertura de lipossomos com fins terapêuticos. A manana é ligada a uma âncora hidrofóbica, como o colesterol, que se associa a camada bilipídica permitindo que o polissacarídeo atue como uma cobertura para o lipossomo. Esta modificação aumenta a estabilidade do lipossomo, tornando-o mais resistente a ação enzimática. O mesmo procedimento e com finalidade semelhante foi utilizado com sucesso para ligar uma manana a emulsões água-óleo que são empregadas para "carregar" certos medicamentos^{87,170}.

1.3- Galactomananas

As galactomananas podem ser provenientes de fontes vegetais, de líquens, ou microbianas (leveduras e fungos). Estruturalmente estes dois grupos de galactomananas apresentam diferenças. Nos vegetais estes polissacarídeos geralmente consistem de uma cadeia de unidades β -D-manopiranosose unidas por ligações (1 \rightarrow 4), apresentando grupos simples α -D-galactopiranosose ligados em O-6 ao longo da cadeia principal. Enquanto que, as galactomananas que pertencem ao segundo grupo apresentam uma variedade de ligações, além das unidades monossacarídicas apresentam-se frequentemente na forma furanosídica^{42,67,68,69,70}.

A galactomanana de *Cassia ovata*, estudada recentemente, pode ser citada como exemplo de estrutura convencional de galactomanana de leguminosa. Este polissacarídeo, com relação manose: galactose 2,5:1, foi analisado por metilação e oxidação com periodato. Os produtos de hidrólise ácida parcial para este polissacarídeo foram: manobiose [β -D-Manp-(1 \rightarrow 4)-D-Manp], epimelibiose [α -D-Galp-(1 \rightarrow 6)-D-Manp], manotriose [β -D-Manp-(1 \rightarrow 4)- β -D-Manp-(1 \rightarrow 4)-D-Manp] e galactosilmanobiose [α -D-Galp-(1 \rightarrow 6)- β -D-Manp (1 \rightarrow 4)-D-Manp], além de galactose e manose¹⁰¹.

Alguns desvios da estrutura usual de galactomananas de vegetais já foram constatados^{42,48,165}.

Na galactomanana de *Caesalpinia pulcherima*¹⁷⁹ uma pequena proporção de ligações (1→3) e (1→2) na cadeia principal foi identificada. A galactomanana de *Crotalaria mucronata*¹⁶⁸ também apresenta estes tipos de ligações, porém em maior proporção. A galactomanana de *Cassia absus*¹⁶⁵ apresenta algumas ligações (1→3) na cadeia da manana, estando presentes também substituições por α -D-galactopiranoses ligadas em O-2 na cadeia principal, além daquelas convencionais ligadas em O-6. A análise de metilação, ¹³C-n.m.r. e dos produtos de hidrólise ácida parcial da galactomanana das sementes de *Crotalaria medicaginea* também indicou a presença anômala de algumas unidades de manose substituídas em O-3 por galactose⁷³. Na galactomanana de *Cassia corymbosa*¹⁷⁴ foi verificada a presença de algumas cadeias laterais formadas de duas unidades de α -D-galactopiranoses (1→6) ligadas. É possível que este tipo de ramificação também ocorra nas galactomananas de *Gleditsia amorphoides*²⁹ e *Gleditsia triacanthos*¹⁰³.

As características estruturais da galactomanana de *Melilotus indica*⁷⁴ afastam-se bastante da estrutura clássica. Neste polissacarídeo a cadeia principal de manose é composta de 36% de ligações (1→4) e 10% de ligações (1→2). Além da presença de unidades de α -D-galactopiranoses, estão presentes cadeias de unidades de α -D-galactopiranoses (1→4) ligadas, unidas a O-6 na cadeia da manana. Apresenta ainda cadeias laterais de três unidades de β -D-manopiranoses (1→4) ligadas, unidas a O-4 de uma unidade α -D-galactopiranoses, que se liga a cadeia principal por ligação (1→6).

Nos vegetais, as galactomananas são encontradas em sementes de plantas da família leguminosae, principalmente^{42,48}. A ocorrência de galactomananas em sementes de espécies pertencentes as famílias *Annonaceae*¹⁰⁰, *Convolvulaceae*^{100,76}, *Loganiaceae*⁴⁸ e *Palmae*^{100,134} já foi descrita, embora nesta última a presença de galactomanana esteja subordinada ao estágio de desenvolvimento da semente, ocorrendo somente em sementes imaturas^{100,134,149}.

A fonte de galactomananas de sementes é o endosperma, com exceção para *Gymnocladus dioica* e *Glycine max*, ambas leguminosas, onde a galactomanana ocorre na casca^{9,42,48,185}.

O conteúdo de endosperma em sementes de leguminosas pode variar de 1-2% até 50-60% em espécies *Cyamopsis*, *Ceratonia* e *Cassia*. Os teores de galactomanana nas sementes de leguminosas também variam muito, desde níveis muito altos como 15-38% do peso da semente, até níveis inferiores de 1-15% ou até mesmo a ausência. A subfamília *Caesalpinioideae* parece ser aquela que oferece maior rendimento em galactomanana.

A relação D-manose: D-galactose foi determinada para galactomananas de 70 espécies, variando de 1:1 para *Medicago sativa* até 5,26:1 para *Sophora japonica*. Nas leguminosas, os menores graus de

substituição são característicos de espécies *Caesalpinioideae*. Alguns autores consideram que a quantidade de galactomanana presente no endosperma de leguminosas pode ter importância taxonômica, embora o rendimento destes polissacarídeos possam variar com o método e tempo de extração. O grau de substituição destes polissacarídeos também é indicado como possível guia na taxonomia de leguminosas, uma vez que a relação manose: galactose varia dentro das subfamílias e mesmo entre os gêneros^{42,48}. As galactomananas também foram indicadas como possíveis guias quimiotaxonômicos para as espécies *Convolvulaceas*^{22,42,48,60,142,186}.

A extração aquosa a diferentes temperaturas das sementes de *Gleditsia triacanthos* forneceu galactomananas com distintos graus de substituição. Todas as frações continham pequenas proporções de xilose, arabinose e proteínas. Mazzini e Cerezo verificaram que mesmo após a eliminação das proteínas não covalentemente ligadas, estas galactomananas purificadas retinham certa quantidade de proteína sugerindo que estes polissacarídeos ocorram como peptidoglicanas. As galactomananas de guar (*Cyamopsis tetragonolobus*), carob (*Ceratonia siliqua*) e lucerne (*Medicago sativa*), mesmo após purificação também apresentam pequena proporção de proteína^{110,113}.

Por outro lado, Shcherbukhin¹⁶⁰ estudando galactomananas de oito espécies de leguminosas encontradas na União Soviética, entre elas a *Gleditsia triacanthos* (introduzida no sul da Rússia), afirma que a banda característica de proteínas no espectro de infra vermelho desaparece após a purificação destes polissacarídeos.

Assim como outros polissacarídeos naturais, as galactomananas tendem a ser polidispersas. Sua estrutura permite três tipos de dispersão molecular: por peso molecular, pela relação manose:galactose e pela distribuição das cadeias laterais^{42,48,110}.

Quando dispersas em água, as galactomananas formam soluções de alta viscosidade. As galactomananas secas, como outros hidrocolóides, são hábeis em embeber água em quantidades que excedem muitas vezes sua própria massa, resultando na formação de pseudogéis homogêneos^{42,160}.

A determinação do peso molecular das galactomananas é dificultada devido a alta viscosidade de suas soluções, mesmo quando diluídas. A ocorrência de formas agregadas em soluções de galactomananas também interfere na determinação do peso molecular. Os pesos moleculares de galactomananas variam muito, desde 6000 para *Sophora japonica* até quase 2000.000 para *Cyamopsis tetragonolobus*. Os valores de peso molecular dependem da técnica utilizada. Uma amostra de guar comercial (*Cyamopsis tetragonolobus*) apresenta por medidas osmométricas um peso molecular numérico médio (Mn) de 240.000,

enquanto que o peso molecular ponderal médio (Mw), determinado por "lighth-scattering" e medidas de viscosidade foi de 950.000. A grande diferença entre Mn e Mw é indicativa de alto grau de polidispersidade^{42,168}.

As moléculas de galactomananas no estado sólido apresentam-se em uma conformação do tipo "fita", relativamente estendida e flexível, e acredita-se que a presença das cadeias laterais de galactose não afetem a conformação da cadeia principal, porém estas tem grande influência na solubilidade destes polissacarídeos. A substituição em 0-6 de unidades D-manose por grupos D-galactose resulta em um aumento na capacidade de hidratação, aumentando a solubilidade destes polissacarídeos. Um nível mínimo de substituição de 10% de grupos galactose é necessário para a solubilidade em água a temperatura ambiente.^{2,42,44,47,48,117,136,168}

Em solução aquosa as galactomananas apresentam-se em uma conformação do tipo enovelada ("random coil"), um estado que só é revertido a formas mais ordenadas em condições favoráveis de agregação ou interação com outras espécies. As galactomananas em solução, submetidas a variação de temperatura não apresentam mudança na rotação ótica, indicando a ausência de transições conformacionais^{42,47,150}.

Devido a natureza não iônica das galactomananas, estes polissacarídeos mantêm sua viscosidade aproximadamente constante em uma ampla faixa de pH. A viscosidade reduzida para a galactomanana de *Stryphnodendron barbatiman* (barbatimão) foi observada em pHs variando de 2,5 a 8,0 sem que nenhuma variação significativa de viscosidade tenha sido detectada nesta faixa de pH^{42,102}.

É aceito que a viscosidade das soluções de galactomananas seja essencialmente controlada pelo tamanho molecular, e o nível de substituição representa pouco ou nenhum papel. Porém, foi encontrado uma amostra de galactomanana de *Ceratonia siliqua* (alfarrobo) com Mw 650.000 que apresentava uma viscosidade menor do que uma amostra de galactomanana de *Cyamopsis tetragonolobus* (guar) com Mw 250.000. A explicação para este comportamento foi atribuída a presença de agregados na amostra de alfarrobo. Acredita-se que a extensão da cadeia principal não substituída seja mais importante do que a proporção manose:galactose^{42,44}.

Por outro lado, Dea^{44,192} estudando o efeito do conteúdo de ramificação nas propriedades de galactomananas derivadas de guar, com diferentes proporções manose:galactose, mostrou que a viscosidade intrínseca nestas amostras aumentou com a remoção dos grupos galactose.

Sharman et al¹⁵⁸. utilizando galactomananas de *Ceratonia siliqua*, *Cyamopsis tetragonolobus*, *Lotus pendiculatus* (I e II), *Medicago sativa*, *Trifolium pratense*, *Sophora japonica* e *Glycine max* com

relações manose: galactose e pesos moleculares de 3,85 : 1(319.000) ; 1,75 : 1(675.000) ; 1,11 : 1(3.700) ; 1,02 : 1(332.000) ; 1,13 : 1(239.000) , 1,15 : 1(416.000) ; 5,12 : 1(152.000) e 1,40 : 1(16.600), respectivamente, conseguiram mostrar que galactomananas com diferentes relações manose:galactose comportam-se em solução como uma série homóloga de moléculas que diferem somente no peso molecular.

A proporção manose:galactose e a distribuição dos grupos D-galactose ao longo da cadeia principal tem efeito fundamental nas propriedades das galactomananas, não só na sua solubilidade em água, como também na sua capacidade de interação intermolecular e susceptibilidade a degradação enzimática^{42,45,47,192}.

As galactomananas de *Caesalpinia pulcherima* (24% de galactose) e *Ceratonia siliqua* (25% de galactose) tem pesos moleculares semelhantes, porém a última possui uma maior proporção de blocos não ramificados de comprimento intermediário. Esta característica é responsável pela maior interação do polímero de *Ceratonia siliqua* com outros polissacarídeos, como carragenana, agar ou xantana, quando comparada a galactomanana de *Caesalpinia pulcherima*, indicada pela maior variação positiva na rotação ótica no resfriamento de sistemas mistos^{43,44,192}.

A maior parte dos estudos sobre galactomananas tem origem no interesse comercial que envolve estes polissacarídeos, que encontram aplicação em diferentes áreas da indústria. Comercialmente, somente as galactomananas de guar (*Cyamopsis tetragonolobus*), de alfarrobo ou "locust bean", (*Ceratonia siliqua*) e de tara (*Caesalpinia spinosa*) são utilizadas, embora esta última o seja em muito menor escala que as duas primeiras^{42,48,118,153,164,186}.

A galactomanana de alfarrobo é uma das mais antigas gomas extraídas de sementes. A árvore que fornece esta goma é facilmente cultivada, porém é sensível a baixas temperaturas. É nativa da costa do Mediterrâneo, e não é encontrada fora desta área, por esta razão por ocasião da segunda guerra mundial, quando as importações desta goma para os Estados Unidos foram drasticamente reduzidas, o guar foi introduzido para a produção comercial de galactomanana. A *Ceratonia siliqua*, também chamada de carob, é uma leguminosa que cresce até 9m de altura cujo início da produção de frutas se dá após quatro anos aproximadamente. A galactomanana de alfarrobo é extraída do endosperma das sementes e é comercializada em quatro principais classes, que variam no grau de pureza e na malha utilizada na sua produção. A galactomanana de alfarrobo é oferecida com uma variedade de nomes comerciais: "Aroban", "Gum-gatto", "Gum Hero", "Lakogeum", "Lipogum" e "Tragasol", entre outros. Este polissacarídeo apresenta uma proporção manose:galactose de cerca de 3,55:1, sendo apenas incompletamente disperso em água fria,

necessitando de aquecimento para a completa sulubilização^{42,55,152,153,182}.

O guar é uma espécie leguminosa, nativa da Índia e Paquistão, mas que cresce facilmente em muitas áreas, sendo cultivada na Austrália, África do Sul e nos Estados Unidos, em regiões do Texas. É uma planta anual, que apresenta de 0,9 a 1,2m, se assemelha a soja em aparência, cuja plantação e colheita podem ser feitas pelas técnicas agrícolas comuns, utilizando maquinária vulgar, o que faz com que suas sementes sejam obtidas a preços mais baixos do que as de alfarrobo. Isto explica o acentuado aumento no consumo da galactomanana de guar desde sua introdução no comércio em 1953. Atualmente a galactomanana de guar, predomina no mercado destes polissacarídeos. Esta situação tende a se manter, uma vez que o alfarrobo é uma árvore perene que exige longo período para o início da produção de sementes e cujos níveis de produção não podem ser rapidamente aumentados. Além disto ela cresce em terras onde o reflorestamento é dificultado pela disputa destas áreas para fins turísticos. A galactomanana de guar é extraída do endosperma das sementes, e é disponível comercialmente em diferentes graus de pureza. A relação manose:galactose de 1,4:1, permite que este polissacarídeo seja completamente solúvel em água fria^{23,42,55,65,118,153,182}.

Baker e Whistler¹¹ estudando por métodos químicos a distribuição dos grupos galactose nas galactomananas de guar e alfarrobo, concluíram que na primeira estas unidades estão alternadamente dispostas ao longo da cadeia da manana, enquanto que na segunda elas ocorrem em blocos. Entretanto, conforme observado por Painter¹¹⁶, o arranjo alternado proposto para a galactomanana de guar requer uma proporção manose:galactose de 2:1, enquanto que a grande maioria das amostras de guar contém $38 \pm 2\%$ de galactose.

Espectros de difração de raios-x de amostras de galactomanana de guar confirmam a distribuição alternada. Por outro lado, recentes estudos de difração de raios-x para uma série de galactomananas contendo 21 a 34% de galactose mostraram espectros muito semelhantes, indicando que esta técnica não oferece conclusões definitivas sobre a estrutura fina de galactomananas^{83,111,116}.

Os resultados de estudos de oxidação com periodato para as galactomananas de guar e alfarrobo não foram consistentes com uma distribuição de cadeias laterais alternadas, ou em blocos, sugerindo uma distribuição randômica para ambas⁸³.

Recentemente, McCleary et al.¹¹⁶ estudaram a estrutura fina das galactomananas de guar e alfarrobo por meio da análise computadorizada de oligossacarídeos obtidos por hidrólise enzimática utilizando β -D-mananases, que rompem a cadeia da β -D-(1 \rightarrow 4) manana em regiões não substituídas ou pouco

substituídas. Estes estudos indicaram uma distribuição irregular dos grupos galactose para ambas as galactomananas.

Na galactomanana de alfarrobo foi observada uma alta frequência de pares de unidades de manose substituídas, de unidades de manose substituídas isoladas e de blocos não substituídos de comprimento intermediário, sugerindo uma distribuição de cadeias laterais ao acaso.

Para a galactomanana de guar os resultados indicaram uma distribuição das unidades de galactose em pares (2 unidades consecutivas de manose substituídas), e em tripletes (3 unidades consecutivas de manose substituídas), em concordância com o que já havia sido proposto por Hoffman e Svensson⁸².

As galactomananas obtidas de diferentes variedades de guar e alfarrobo apresentam os mesmos padrões de distribuição de galactose. Isto indica que sua síntese nas sementes é sofisticadamente controlada e que as diferenças encontradas na estrutura fina destas galactomananas quando obtidas de diferentes fontes deva-se, provavelmente as diferenças nos procedimentos analíticos empregados.

Já, as galactomananas com o mesmo conteúdo de galactose que o alfarrobo, obtidas de sementes ou por modificação com α -D-galactosidase, não apresentam a mesma distribuição de grupos laterais que o alfarrobo^{116,117}.

As galactomananas de alfarrobo e de guar apresentam semelhantes valores de viscosidade, 1330 e 1030 ml/g, respectivamente, mas diferem significativamente nas propriedades de interação envolvendo geleificação com outros polissacarídeos¹¹⁸.

Robinson et al.¹⁵⁰ estudaram as propriedades em solução de cinco amostras de guar com diferentes pesos moleculares. Os pesos moleculares foram determinados por "light scattering" e variaram de 440.000 até 1.650.000, e as viscosidades intrínsecas variaram de 450 a 1250 ml/g. A variação da viscosidade intrínseca com o peso molecular seguiu a relação de Mark-Houwink $[\eta] = KM^\alpha$, com $K = 3,8 \cdot 10^{-4} \text{ dl.g}^{-1}$ e $\alpha = 0,723$, consistentes com o comportamento "random coil".

Doublier e Launay⁴⁹ estudando as propriedades reológicas das galactomananas de guar e alfarrobo encontraram diferenças de comportamento entre amostras diferentes provenientes da mesma espécie. Estas diferenças foram atribuídas a variações no grau de ramificação das moléculas.

Trabalhos anteriores já haviam mostrado que as gomas guar e alfarrobo podem ser fracionadas em três grupos com diferentes conteúdos de galactose. Isto implicaria na existência de uma faixa de moléculas de diferentes relações manose:galactose em cada amostra.

As soluções de galactomanana de guar e alfarrobo, assim como outras galactomananas já

estudadas, são altamente viscosas, e em concentrações em torno de 1% apresentam comportamento pseudoplástico. Em concentrações mais baixas ($< 0,3\%$) o comportamento das soluções de galactomananas aproxima-se do Newtoniano^{42,49,65,152,158}

Entretanto, um estudo das propriedades reológicas das soluções da galactomanana de *Mimosa scabrella* indicou que esta apresenta um comportamento viscoelástico menos acentuado do que aqueles encontrados para soluções de outras galactomananas. Esta diferença é atribuída ao alto conteúdo de galactose (manose: galactose $\sim 1:1$) na galactomanana da *Mimosa scabrella*⁶².

Em solução, as moléculas de galactomananas provavelmente apresentem associação lateral entre segmentos moleculares não substituídos da cadeia principal formando agregados. Assim, devido ao menor conteúdo de galactose no alfarrobo do que no guar, a presença destes agregados dificulta sua solubilização, exigindo um aquecimento a 80-90 °C para desagregação das regiões associadas^{118,132,152,153}.

Se por um lado o maior grau de substituição na galactomanana de guar, lhe confere a capacidade de hidratar-se rapidamente em água fria, por outro, impede que ela interaja com outros polissacarídeos, como ágar, carragenanas e xantana, formando géis^{23,118}.

A utilização de galactomananas na obtenção de géis de composição glicídica binária exige galactomananas com baixos conteúdos de galactose ($< 30\%$). Este tipo de interação é de grande importância industrial, pois as galactomananas além de serem mais baratas que a carragenana e o ágar, conferem melhor qualidade aos géis, tornando-os menos quebradiços, mais elásticos e menos sujeitos a sinérese^{23,25,26,42,43,118,178}.

Bulpin et al., visando a produção em larga escala, tentaram aperfeiçoar o processo desenvolvido por McCleary e colaboradores para a modificação da galactomanana de guar pela remoção de cadeias laterais utilizando α -galactosidase. A reação enzimática em soluções diluídas de guar torna o processo inviável, devido ao alto custo para a remoção do solvente. Anteriormente McCleary e colaboradores haviam demonstrado que a reação com α -galactosidase poderia ser efetiva em concentrações de galactomanana de 70% (p/p). Entretanto Bulpin et al. verificaram que a máxima eficiência da enzima a 35 °C ocorre em concentrações de guar de 2% (p/p), já a 45 °C a reação é mais eficiente em concentrações de 10%, enquanto que a 50 °C em concentrações de 20-30%. Em temperaturas superiores a 50 °C ocorre a inativação da enzima. Nos sistemas relativamente diluídos, a eficiência da α -galactosidase apresentou um aumento na seguinte sequência 35 °C > 42 °C > 50 °C, refletindo a maior estabilidade da enzima em temperaturas mais baixas. Com acréscimo na concentração de guar a reação foi mais eficiente a 50 °C. Pela manipulação do

tempo de reação, da temperatura e da relação enzima/guar eles obtiveram galactomananas com diferentes conteúdos de galactose. Uma amostra contendo 22-24% de galactose apresentou as mesmas propriedades que a galactomanana de alfarrobo^{23,118}.

As galactomananas de guar e alfarrobo são amplamente utilizadas na indústria de papel, são adicionadas durante o processo de obtenção da polpa celulósica com a finalidade de repor o suplemento natural de hemicelulose, que é indesejadamente removido no processo de delignificação, contribuindo nas propriedades de hidratação da polpa e resistência da folha de papel formada. O maior uso industrial da galactomanana de guar é na indústria de papel^{65,153}.

Na indústria alimentícia, devido as suas propriedades espessantes, as galactomananas são utilizadas em sopas, sobremesas, recheios de tortas, molhos e maioneses. Nos sorvetes, as galactomananas atuam como estabilizantes, e evitam a formação de cristais de gelo, pois sua alta capacidade de hidratação retira a água livre do sistema; melhoram a textura e a aparência destes produtos e aumentam sua resistência a variações de temperatura. Em salsichas, a galactomanana de alfarrobo é utilizada como agente ligante e estabilizante, tomando estes produtos mais homogêneos e suavizando-lhes a textura. A goma oferece um efeito lubrificante que facilita o enchimento do produto. Na fabricação de certos queijos, a adição de galactomanana promove um aumento no rendimento e melhoria na textura^{42,55,65,130,152,153}.

Um estudo objetivando o aumento do teor de cálcio em ricota, mostrou que a utilização de lactato de cálcio e soluções de galactomanana de guar teve um excelente desempenho. O sabor foi muito mais aceitável quando esta mistura era usada. Além disso, a galactomanana de guar teve maior êxito em mascarar o amargar do cálcio adicionado do que outras gomas testadas como, goma arábica, carragenana, xantana e mesmo alfarrobo. Absorção de cálcio do produto assim obtido, testado em ratos, também foi muito eficiente, nas condições testadas⁹⁶.

A galactomanana de alfarrobo é utilizada como estabilizante em "chantilly" e "ketchup". Na panificação, a incorporação de galactomananas, além de resultar em uma massa com melhor aparência e textura, aumenta o rendimento e permite que os produtos sejam preservados por mais tempo^{55,152,153}.

Em um estudo, comparando a adição de galactomanana de guar e pectina, em altas concentrações, a pães e biscoitos com a finalidade de desenvolver produtos dietéticos, a primeira teve uma aceitação muito maior em testes de degustação. Os produtos contendo guar tiveram boa aceitação mesmo após quatro semanas de armazenamento. A galactomanana de guar também foi avaliada para utilização em bolinhos de frango, com a finalidade de melhorar as características de adesão da massa^{61,85}.

Na indústria de cosméticos as galactomananas são utilizadas como espessantes e estabilizantes em cremes e loções^{65,152}.

Na indústria farmacêutica, além do uso medicinal direto como dietéticos, as galactomananas são utilizadas na fabricação de comprimidos alterando a velocidade de liberação da substância ativa. Um estudo utilizando amostras de galactomananas de nove espécies diferentes concluiu que, a capacidade em retardar a liberação do medicamento aumenta com o aumento do grau de ramificação da goma. Isto se deve a maior capacidade destas galactomananas em hidratarem-se rapidamente em contato com o meio aquoso formando "géis" que retardam a erosão do comprimido^{13,42,61,65,130,152}.

A esterificação e eterificação de galactomananas para obtenção de filmes, foi patenteada com a finalidade de utilização no encapsulamento de medicamentos¹².

A galactomanana de guar é utilizada como estabilizante na preparação de vitamina B₁₂ e com sais de bismuto mostra efeito sinérgico no tratamento de úlceras gastrointestinais e diarreias⁴².

As galactomananas encontram aplicação como agentes floculantes. A goma guar é aprovada pelo serviço de Saúde Pública dos EUA como coagulante no tratamento de água. A galactomanana utilizada em conjunto com os coagulantes convencionalmente usados para estes fins aumenta o tamanho do floco e a taxa de deposição de impurezas sólidas^{65,152}.

Em mineração, as galactomananas são usadas na separação do minério, ligando-se por pontes de hidrogênio a sua superfície hidratada⁶⁵.

Na produção de explosivos a base de nitrato de amônio as galactomananas são utilizadas como espessantes^{65,152}.

A goma de alfarrobo é utilizada na manufatura de papéis fotográficos hidroresistentes¹⁵².

As galactomananas ainda atuam como agente de flotação, estabilizantes em espumas e auxiliares em filtrações^{55,65,152,153}.

Em certas aplicações as galactomananas nativas não apresentam a propriedade desejada, assim a funcionalidade da goma pode ser modificada pela preparação de derivados que alteram suas propriedades, por exemplo, diminuindo as interações por pontes de hidrogênio, aumentando sua solubilidade em misturas água-álcool ou melhorando a compatibilidade com eletrólitos¹⁵³.

As galactomananas podem ser quimicamente modificadas por uma ou mais reações, tais como, despolimerização, oxidação, hidroxialquilação, carboximetilação, cianoetilação, quaternização e sulfatação. As propriedades do produto obtido dependem da natureza e do grau de substituição. Para o guar, os

derivados mais utilizados são o hidroxipropil, hidroxietil, carboximetil e quaternário de amônia. Eles são preparados pelo tratamento do guar em meio alcalino com óxido de propileno, óxido de etileno, monocloroacetato de sódio e cloreto de de amônia quartenária, respectivamente, durante o processamento^{132,153}.

As galactomananas podem formar géis pela adição de agentes reticulantes. Os íons borato são os mais utilizados, embora o uso de sais de cobre, cálcio, alumínio, cromo e de outros metais de transição já tenha sido mencionado. A utilização de dióxido de titânio e de íons antimonato $[Sb(OH)_6]^-$ também já foi explorada. Por complexação da galactomanana de guar ou de hidroxipropilguar com íons borato, podem ser obtidos desde géis fracos, que não mantêm sua forma, até géis firmes que comportam-se como sólidos elásticos. A formação e a resistência destes géis dependem do pH, temperatura e concentração dos reagentes. O pH ótimo para a formação do gel situa-se na faixa de 7,5 a 10,^{521,55,65,123,124,128}.

A obtenção de géis galactomanana-borato é realizado pela mistura de tetraborato de sódio (bórax) $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ e galactomanana, em soluções aquosas. O tetraborato de sódio em solução dissocia-se completamente formando ácido bórico e íons borato, que co-existem em um equilíbrio ácido-base, que é afetado pela temperatura e pH. Estudo de géis galactomanana-borato tem atraído muitas atenções, devido a possibilidade da utilização de espectroscopia de ^{11}B -n.m.r. na avaliação das interações, além dos dados obtidos por reologia. Os íons monoborato em solução de galactomanana formam complexos com grupos diol-cis da cadeia polissacarídica. Recentes estudos de ^{11}B -n.m.r. mostraram que para as galactomananas dois tipos de complexos monodiol-borato (1:1) e dois tipos de complexos didiol-borato (2:1) podem ser formados, obtendo-se anéis de cinco ou seis membros. Entretanto a presença do anel de cinco membros é predominante, especialmente nos complexos 2:1, onde constituem a maioria. A presença de complexos com anéis de cinco membros exige a ocorrência de dois grupos hidroxílicos em configuração cis. Este é o caso de OH-2 e OH-3 das unidades de D-manose, e de OH-3 e OH-4 das unidades de D-galactose. O anel de seis membros, envolvendo O-4 e O-6 só pode ser obtido das unidades de galactose^{21,97,122,123,124,128,129}.

Gorin et al⁶⁷. utilizando espectroscopia de 1H -n.m.r. mostraram que o metil- β -D-manopiranosídeos não formam complexos com borato tão facilmente quanto os metil- α -D-manopiranosídeos. Assim, na galactomanana, as unidades de galactose são os principais pontos de complexação. Nos sistemas galactomanana-borato a maioria dos complexos são de anéis de cinco membros e complexos 2:1. Nos géis galactomanana-borato, a transformação sol-gel é reversível; o gel pode ser liquefeito pela redução o pH para valores inferiores a 7 ou pelo aquecimento. Os géis também podem ser liquefeitos pela adição de poliois de

baixo peso molecular, como glicerol ou manitol, capazes de reagir com os íons borato^{65,128}.

Certas misturas binárias de polissacarídeos exibem interações sinérgicas que conduzem a formação de géis termorreversíveis^{26,42}.

É possível obter géis mistos de galactomanana com ágar, furcellarana, carragenana, xantana e gelana. O sistema galactomanana-xantana é o mais interessante, uma vez que nenhum dos componentes quando isolado é capaz de formar gel^{25,42,192}.

Existem pelo menos quatro tipos de estruturas que podem ser identificados em géis binários : a rede tridimensional é formada somente por um dos componentes, que apenas contém o segundo ; ambos os componentes formam redes tridimensionais que se interpenetram; ambos formam redes tridimensionais, sem interpenetração ou os dois polímeros se ligam entre si através de "zonas de junção" específicas, e a rede tridimensional é obtida pela participação de ambos²⁶.

A formação de géis de galactomanana com polissacarídeos de algas ou de origem microbiana é atribuída ao resultado de ligações intermoleculares não covalentes entre as regiões não substituídas da galactomanana em sua conformação ordenada e a hélice do outro polissacarídeo, embora não exista prova direta que confirme tal ligação^{26,42}.

Em níveis de concentrações dos polímeros inferiores aos requeridos para a geleificação, as interações polímero-polímero conduzem a um aumento na viscosidade da solução⁴⁶.

As galactomananas com menor grau de substituição interagem com outros polissacarídeos, produzindo géis, em muito maior extensão do que aquelas mais substituídas, sugerindo que as associações envolvam as regiões "lisas" da cadeia da manana^{45,136}.

Dea e colaboradores estudaram a influência do grau de substituição das galactomananas em sua capacidade de formar géis por interação com outros polissacarídeos. Os estudos indicaram que o efeito da distribuição dos grupos D-galactosil ao longo da cadeia da D-manana é muito mais importante que conteúdo de galactose. Algumas comparações entre galactomananas com conteúdo de galactose semelhantes, mostraram diferenças nas propriedades de interação. Estas diferenças foram correlacionadas com as diferenças na estrutura fina dos polissacarídeos, como a frequência relativa de segmentos não substituídos de comprimento intermediário na cadeia de manose, que favorecia as associações.

Assim, a galactomanana de *Leucaena leucocephala* (40% de galactose) tem capacidade de interação semelhante as da galactomanana de *Caesalpinia vesicaria* (29% de galactose)^{43,45}.

Entretanto, McCleary¹¹⁵ observou que os oligossacarídeos obtidos pela hidrólise da galacto-

manana de *Leucaena leucocephala* por uma β -D-mananase consistiam de pequenas proporções de manobi-ose e manotriose a altos percentuais de Gal-Man₂, indicando que este polissacarídeo não contém longos segmentos de manose não substituída. Isto sugere que, na verdade, a interação com outros polissacarídeos poderia ocorrer nas regiões onde os grupos galactosil estivessem posicionados em um mesmo lado da cadeia.

Dea e colaboradores verificaram que amostras de k-carragenana segmentadas, obtidas por um processo de degradação seletiva, que conservavam a conformação em dupla hélice, mas não formavam gel em nenhuma concentração, na presença de certas galactomananas produziam géis firmes. A adição de galactomananas de "fenugreek" ou de guar, com relação manose:galactose de 1,08:1 e 1,56:1, respectivamente, não provocava a formação de gel. Já a adição das galactomananas de tara ou de alfarrobo, que possuem relação manose:galactose de 3,0:1 e 3,35:1, respectivamente conduzia a obtenção de géis.

Análises do comportamento ótico da k-carragenana em função da concentração mostram que a formação da rede tridimensional está relacionada com a transição hélice \leftrightarrow enovelada ("coil") e que as hélices são formadas em misturas com galactomananas. Estes fatos foram considerados pelos autores como evidências para o modelo de associação galactomanana-k-carragenana segundo "zonas de junção" mistas entre as regiões lisas da galactomanana e a dupla hélice da k-carragenana^{42,47}.

A técnica de difração de raios-x foi utilizada na análise de géis de alfarrobo-k-carragenana e tara-k-carragenana. Nenhuma evidência da existência de ligação intermolecular entre os componentes foi encontrada nestes estudos sugerindo que o modelo mais provável para tais géis consista de uma rede tridimensional formada unicamente pelas moléculas da k-carragenana, estando a solução de galactomanana contida nesta rede. Segundo os autores, a falta de compatibilidade estérica entre a cadeia da manana e a hélice da carragenana seria outro dado que favoreceria este modelo²⁶.

O mesmo modelo foi proposto para os géis furcelarana-alfarrobo e furcelarana-tara, já que os diagramas de difração de raios-x obtidos para estes géis foram idênticos àqueles para a furcelarana sozinha^{25,26}.

Rochas et al¹⁵¹ estudaram os géis binários, galactomanana-kcarragenana, utilizando espectroscopia de ¹³C-n.m.r.. Os espectros de ¹³C-n.m.r. obtidos para a k-carragenana em presença de cloreto de potássio, em diferentes temperaturas, acima e abaixo da temperatura de transição conformacional, mostraram um progressivo desaparecimento de todos os sinais. A 50°C, nenhum sinal era detectado devido a adoção de uma estrutura ordenada e rígida.

Para a galactomanana de alfarrobo nenhuma transição pode ser detectada quando a temperatura

varia de 80 a 25°C, coerente com o comportamento enovelado ("random coil") destas soluções.

A mistura das soluções de ambos os polissacarídeos foi estudada nas mesmas condições. No espectro da mistura a 80°C ambos os componentes foram identificados. A 25°C somente o espectro da galactomanana foi detectado. Este último espectro foi comparado ao espectro da galactomanana pura na mesma temperatura e concentração, indicando um decréscimo de 40% nos sinais, o que sugere que a mobilidade das correspondentes cadeias foi fortemente restringida.

Analisando as proporções de desaparecimento de cada sinal da galactomanana foi possível postular que a interação alfarrobo-kcarragenana leva ao desaparecimento dos sinais de 60% das unidades de manose não substituídas e 15% das unidades substituídas por galactose. Isto estaria de acordo com observações anteriores de que as interações ocorrem entre segmentos não substituídos da cadeia da manana^{42,151}.

Entretanto, os segmentos das cadeias de galactomananas envolvidos em interações poderiam tanto estar incorporados a rede tridimensional com a k-carragenana por "zonas de junção" quanto estarem formando uma rede tridimensional própria interpenetrando àquela da carragenana. Medidas reológicas para os mesmos géis binários também apontaram para estas duas possibilidades.^{151,178}

A possibilidade de agregação da galactomanana promovida pela presença da rede tridimensional da k-carragenana foi excluída pelos autores, pois envolveria redes tridimensionais separadas, implicando em separação de fases, o que não foi observado em trabalhos anteriores^{26,151}.

Análises por espectroscopia de ¹³C-n.m.r. também foram realizadas para sistemas kcarragenana-manana, utilizando a manana de "ivory nut". A 25°C um acentuado decréscimo na intensidade de todos os sinais da mistura na ausência de cloreto de potássio pode ser observada. A adição de íons potássio à mistura levou ao total desaparecimento nos sinais da k-carragenana e uma nova e pronunciada redução na intensidade dos sinais de ressonância da manana. Estes resultados evidenciam a interação intermolecular, mas não são suficientes para discriminar entre as ligações manana-manana ou manana-kcarragenana¹⁵¹.

Recentemente, Fernandes e colaboradores estudaram o efeito da galactomanana de alfarrobo na estrutura e propriedades reológicas da kcarragenana^{56,57,58,59}.

Nestes estudos, géis binários em concentração total de polissacarídeo de 1% ou 0,3%, mostraram uma sinergia máxima quando proporção de kcarragenana: alfarrobo era de 4:1. Este resultado foi obtido para cinco amostras de alfarrobo de diferentes variedades e também para a galactomanana de tara.

Medidas reológicas destes géis sugerem que mecanismo sinérgico possa ser atribuído não só as

regiões não substituídas da galactomanana, mas também seja influenciado pelo peso molecular da mesma. Assim, para uma dada relação manose: galactose, o aumento no peso molecular implicaria em maior sinergia⁵⁷.

Os resultados obtidos por reologia para géis karragenana-galactomanana sustentam o modelo descrito por Dea e Morrison, que assumem a formação destes géis segundo "zonas de junção mistas". Entretanto os autores consideram que este modelo não explicaria a acentuada influência do peso molecular que foi observada, e consideram que os resultados são mais consistentes com a existência de duas redes tridimensionais interpenetrando-se entre si. Neste caso, as moléculas de galactomanana se associariam através das regiões não substituídas da cadeia de manose, levando ao surgimento de uma rede tridimensional secundária, cuja reologia dependeria do peso molecular^{56,57,58}.

Dea e Morrison⁴² propuseram também para os géis xantana-galactomanana o modelo de interação segundo "zonas de junção mistas", conforme haviam sugerido para os géis karragenana-galactomanana e agarose-galactomanana.

Estudos de difração de raios-x de géis binários constituídos por galactomanana de tara ou alfarrobo e xantana confirmaram a existência de ligação intermolecular entre estes polissacarídeos, favorecendo o modelo proposto por Dea e Morrison. Foi verificado que a mistura de soluções de galactomanana de alfarrobo e xantana só formava gel após o aquecimento da mistura a 95°C e posterior resfriamento. Quando a temperatura de transição conformacional da xantana era aumentada, pela adição de cloreto de cálcio, e esta solução era utilizada para a obtenção de gel binário com galactomanana de alfarrobo, mesmo após o aquecimento da mistura a 95°C e subsequente resfriamento nenhum gel era obtido. Este resultado indica que a desnaturação da hélice da xantana é necessária para a interação com a galactomanana²⁶.

Estudos envolvendo a ação da β -mananase em amostras de galactomanana de alfarrobo em presença de xantana demonstraram que a degradação enzimática é inibida se a mistura for aquecida antes da adição da enzima, o que é coerente com a hipótese da necessidade da desnaturação da hélice da xantana para a ligação intermolecular com a galactomanana^{26,117,118}.

Pelos resultados de difração de raios-x obtidos para géis binários xantana-galactomanana, dois modelos de interação diferentes podem ser esperados: associação da cadeia celulósica da xantana e a cadeia de manose da galactomanana ou o modelo "sandwich" onde uma molécula de galactomanana estaria associada a duas moléculas de xantana.

Ainda, o primeiro modelo admite a possibilidade de que as interações entre a xantana e a ga-

lactomanana possam ocorrer não só nas regiões não substituídas da cadeia da manana, como também naquelas irregularmente substituídas ou totalmente substituídas onde as cadeias laterais de galactose estejam dispostas em um mesmo lado da cadeia^{24,26,118}.

Estudos de rotação ótica em géis mistos galactomanana-xantana demonstraram que após a associação a xantana recupera a estrutura em hélice, indicando que somente pequenos segmentos da molécula de xantana estão envolvidos na associação com a galactomanana⁴⁶.

Tako e Nakamura propuseram um modelo de interação entre a xantana e a galactomanana envolvendo as cadeias laterais da primeira e a cadeia principal da segunda. Eles sugerem que uma molécula de xantana pode combinar-se com duas moléculas de galactomananas ou mais, em um arranjo "chave-fechadura". Estes autores verificaram que a xantana desacetilada interage muito mais com as galactomananas do que a xantana nativa, o que seria explicado pela maior flexibilidade da cadeia de xantana na ausência dos grupos acetil, facilitando a associação^{172,173}.

Shatwell et al¹⁵⁹ observaram que uma molécula de xantana que não possuía uma unidade de manose terminal no trissacarídeo das cadeias laterais, formava géis muito frágeis na interação com a galactomanana de alfarrobo, sugerindo que as cadeias laterais da xantana representam um importante papel na interação.

Cheethan e Mashimba^{31,32}, também estudaram a influência dos grupos acetil na geleificação dos sistemas xantana-galactomanana. Estes autores admitem a necessidade da desordem conformacional da xantana para a interação com a galactomanana e concluem que a presença de grupos acetil estabiliza a forma ordenada da xantana, enquanto que os grupos piruvato desestabilizam.

Os géis binários galactomanana-xantana são utilizados na indústria alimentícia como aditivos que atuam no melhoramento e controle de certas propriedades em diferentes produtos, como pudins, geléias, recheios de tortas e patês. Em alguns casos a combinação simultânea da xantana com as galactomananas de alfarrobo e de guar é utilizada. Os modelos de interação galactomanana-xantana podem fornecer informações sobre o relacionamento de interação e reconhecimento patógeno-hospedeiro para a *Xanthomonas campestris*^{38,46,173}.

Entretanto, a completa elucidação e a detalhada descrição dos mecanismos de interação tanto para os sistemas xantana-galactomanana como karragenana-galactomanana requerem estudos adicionais^{31,58,59,178}.

Nas sementes, as galactomananas parecem ter uma dupla função fisiológica. Primeiramente,

elas retêm água por solvatação, e desta forma impedem a dessecação das sementes, o que causaria a desnaturação de enzimas essenciais para a germinação. Em segundo lugar, as galactomananas atuam como polisacarídeos de reserva, que são utilizados durante a germinação das sementes^{31,42,48,143}.

Reid e Bewley¹⁴³ enfatizam a importância das galactomananas na fase inicial da germinação, pela sua capacidade de embeber grandes quantidades de água. Alguns experimentos indicam que o endosperma é capaz de absorver uma quantidade de água acima de 300% do seu próprio peso seco.

Do ponto de vista puramente nutricional, o papel das galactomananas não é qualitativamente diferente daquele das reservas do embrião¹⁴³.

A biodegradação das galactomananas no endosperma em sementes em germinação requer a presença de pelo menos três enzimas: α -D-galactosidase, para a remoção das cadeias laterais de α -D-galactose ligadas (1 \rightarrow 6); β -D-mananase, para a hidrólise da cadeia da β -D-(1 \rightarrow 4) manana em oligossacarídeos e β -D-manosidase para a completa hidrólise dos D-mano-oligossacarídeos. Estas enzimas são sintetizadas pelas células da camada de aleurona. Os produtos da degradação da galactomanana são rapidamente absorvidos pelo embrião e convertidos a sacarose e amido^{42,142,144}.

Foi observado que na germinação de sementes de *Gleditsia ferox* e *Gleditsia triacanthos*, primeiramente há uma remoção das cadeias laterais de D-galactose, seguida da quebra de cadeia da manana e concomitante liberação de D-mano-oligossacarídeos. Foram identificados D-manobiose, D-manotriose e D-manotetraose além de D-manose, D-galactose, e uma galactomanana tendo o conteúdo de D-manose aumentado. Resultados semelhantes também foram obtidos para sementes germinadas de *Trigonella foenum-graecum*⁴².

Uma correlação entre as mudanças observadas durante a germinação das sementes de *Trigonella foenum-graecum* e a atividade das enzimas envolvidos no processo de hidrólise da galactomanana confirmou a participação das mesmas. O aumento na atividade da α -galactosidase iniciou 16 horas após o total inchamento das sementes, que correspondeu exatamente ao tempo de germinação no qual a galactose livre pode ser detectado no endosperma. De forma semelhante, o surgimento da atividade da β -manosidase coincide com a redução detectável da quantidade de galactomanana no endosperma¹⁴⁴.

Reid¹⁴¹ estudando a germinação das sementes de *Trigonella foenum-graecum* verificou que a galactomanana começa a ser consumida 18 horas após a germinação, definida pelo aparecimento da radícula. Em um período de 24 horas a galactomanana é completamente degradada. Durante este período nenhuma mudança significativa na relação manose: galactose foi observada.

Entretanto McCleary e Matheson¹¹⁴ analisando as mudanças estruturais nas galactomananas das sementes de guar, alfarrobo, lucerne (*Medicago sativa*) e "honey locust" (*Gleditsia triacanthos*) durante a germinação observaram uma redução no conteúdo de galactose para as galactomananas de guar e lucerne.

Análises de sementes de *Trigonella foenum-graecum* em diferentes estágios de maturidade mostraram que a composição química da galactomanana permaneceu invariável, sugerindo que nas sementes de leguminosas as galactomananas são sintetizadas por um mecanismo específico envolvendo a deposição simultânea de unidades galactosil e manosil¹⁴⁵.

1.4- *Schizolobium amazonicum*

O *Schizolobium amazonicum* (Hub.). Ducke é uma árvore nativa que pertence a família Leguminosae, sub-família Caesalpinioideae. Pela classificação mais recente a espécie pertenceria a família Caesalpiniceae. É uma árvore de grande porte e crescimento veloz, muito semelhante ao *Schizolobium parahybum*. Distingue-se dele por florescer sem folhas, pelas flores e frutos duas vezes menores, bem como pelas pétalas mais oblongas, mais firmes e glabras e pedicelos articulados^{37,148}.

Ocorre abundantemente no Pará e Amazonas, sendo conhecido como pinho cuiabano, no Rio Trombetas como paricá (nome dado a várias outras leguminosas), ou ainda como faveira^{5,28,37,107,148,162}.

Ainda em um catálogo de nomes científicos e vulgares de plantas de porte arbóreo ocorrentes no Brasil esta espécie consta com o nome de flexeiro¹⁴⁶.

Esta espécie foi classificada pelo Dr. Jacques Huber, porém não foi descrita. Durante algum tempo foi considerada como sendo o *S. parahybum*. Estudos posteriores realizados pelo cientista Adolfo Ducke mostraram tratar-se de uma espécie autônoma, apesar dos caracteres gerais serem quase idênticos.

Levantada a dúvida acima referida, eminentes botânicos norte-americanos estudaram abundante material do *Schizolobium* frequente na Guatemala, Honduras, Honduras Britânica e Nicaragua, e todos chegaram à conclusão de que se trata do *Schizolobium parahybum*, comum da Bahia até o Sul.

Assim, parece que na Amazônia desaparece o *S. parahybum*, sendo aí substituída pelo *S. amazonicum*, mas o primeiro reaparece mais ao norte, já na Colômbia e em toda a América Central, fato que é considerado curiosíssimo³⁷.

Entretanto, vários botânicos, como Record, consideram o gênero *Schizolobium* como monotípico, e o *S. parahybum* estenderia-se desde o Sul do México, passando pela América Central e Amazônia,

até o Sul do Brasil¹⁴⁸.

Apesar das controvérsias, até hoje as espécies tem sido consideradas independentes e a sinonímia não consta no Index Kewensis.

Os aspectos morfológicos das frutos de leguminosas são consideradas em bom caráter para a identificação botânica. Nos gêneros, a forma do fruto permite a identificação das espécies. Este critério foi utilizado para diferenciar as espécies *Schizolobium*¹²⁶.

Albrechtsen⁵ em estudos de espécies na parte baixa da Amazônia Brasileira sugere o pinho cuiabano como uma espécie promissora para reflorestamento, que deveria ser investigada em ensaios de grande escala. Esta espécie também é indicada pelo IBDF para plantações na Região Amazônica. A espécie nativa regenera-se naturalmente e se desenvolve com rapidez na Região Amazônica¹⁸⁰.

Outras pesquisas recomendam a utilização do pinho cuiabano como essência papaleira para reflorestamento. A espécie pode fornecer boa matéria-prima à obtenção de celulose para papel, destacando-se o seu fácil branqueamento e a excelente resistência obtida com o papel branqueado³⁶.

A madeira do pinho cuiabano é considerada leve ($0,30 \text{ g/cm}^3$), possui cor branca, e é utilizada na obtenção de lâminas para chapas de compensados.

A fim de obter maiores informações a cerca das características e propriedades da madeira desta espécie, Van der Slooten¹⁸⁰ desenvolveu um plano de trabalho para amostragem e testes.

Em um estudo químico visando verificar a ocorrência de saponinas e alcalóides em espécies de leguminosas da Amazônia foi constatado a presença de saponinas no caule do pinho cuiabano¹⁶².

Em ampla pesquisa bibliográfica não foi encontrada nenhuma referência a respeito de estudos de polissacarídeos do caule ou semente desta espécie.

2- OBJETIVOS

Considerando-se os aspectos descritos, o presente trabalho tem por objetivo o estudo dos polissacarídeos das sementes de *Schizolobium amazonicum*, conforme os itens abaixo:

- 1- Extração dos polissacarídeos do endosperma. Determinação do rendimento e composição dos polissacarídeos.**
- 2- Caracterização da galactomanana de maior rendimento em termos de estrutura, rotação ótica específica e peso molecular.**
- 3- Análise do comportamento reológico da galactomanana em termos de viscosidade e de sua capacidade de interação com outros polissacarídeos.**
- 4- Extração dos polissacarídeos do tegumento. Determinação do rendimento e composição dos polissacarídeos.**
- 5- Análise estrutural da arabinana.**
- 6- Pesquisa de arabinanas lineares em sementes de outras espécies de leguminosas**

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1- Métodos gerais

Os polissacarídeos obtidos por precipitação com etanol foram separados da fase líquida por centrifugação e lavados com etanol e acetona.

Foi utilizado etanol de grau de pureza industrial na precipitação dos polissacarídeos, sendo os demais solventes e reagentes empregados de grau de pureza PA-ACS.

Os solventes foram removidos em evaporador rotatório a vácuo em temperatura de no máximo 50°C para soluções possacarídicas ou hidrolisados e 40°C para os açúcares metilados.

A liofilização das soluções foi feita em aparelho VIRTIS, modelo 10-145 MR-DH.

O teor de umidade foi determinado por gravimetria.

As medidas de rotação ótica foram efetuadas a 25°C,, em polarímetro digital automático PDA 8200-ACATEC, em lâmpada de halogênio com filamento de tungstênio, filtro de 589nm e caminho ótico de 1,0 decímetro, utilizando-se água ou NaOH 0,5N como solvente.

Os espectros de infra-vermelho (IR) foram obtidos em aparelho Beckman Acculab TM10, sendo as amostras analisadas sob a forma de filmes solúveis em CHCl₃ sobre células de NaCl.

As determinações espectrofotométricas para a região do visível foram realizadas em aparelho Digimed modelo DME-21 e em aparelho Varian Techtron UV-vis modelo 635 e para a região ultra violeta em aparelho Intralab UV-visível modelo DMS-80.

As secagens de amostras para reações que requeriam meio absolutamente anidro ou para análise espectrofotométrica no infravermelho, foram feitas em aparelho de ABDERHALDEN

As cromatografias líquido-gasosas (g.l.c.)⁹⁸. foram feitas em cromatógrafo VARIAN, modelo 2440, com detector de ionização de chama, utilizando-se nitrogênio como gás de arraste. A coluna utilizada continha 3% de ECNSS sobre "Gás Chrom Q" de 100-120 mesh, em tubo de aço inoxidável 200x 0,15 cm (d.i.), com detector a 240°C, injetor a 190°C e fluxo de nitrogênio 37,5 ml/min. A temperatura da coluna para os produtos de hidrólise na forma de acetatos de alditois for de 185°C¹⁶³ e para os acetatos de alditois parcialmente metilados 165°C¹⁰⁵.

Os tempos de retenção para acetatos de alditois parcialmente metilados foram relativas ao tempo de retenção do 1,5-di-O-acetil-2,3,4,6-tetra-O-metil D-glucitol.

A quantificação das proporções relativas dos produtos analisados por g.l.c. foram obtidas pelo método de triangulação¹³⁴.

As análises cromatográficas em fase líquido-gasosa acoplada a espectroscopia de massa (g.l.c.-m.s.) para os acetatos de alditóis parcialmente metilados foram efetuadas em Cromatógrafo VARIAN 3300 acoplado a um espectrômetro de massa FINNIGAN MAT munido com ITS-40, utilizando coluna capilar OV-225 de 30m de comprimento, 0,25mm de diâmetro interno, e hélio ultrapuro como gás de arraste com um fluxo de 2 ml/min. As condições de operação do cromatógrafo foram: temperatura inicial de 50°C, seguida de um gradiente de 40°C/min até 220°C, mantendo-se esta temperatura até o término da análise. As áreas dos picos eram obtidos por integração automática e os picos foram identificados pelos seus perfis de fragmentação característicos.

Os espectros de ressonância nuclear magnética de carbono-13 (¹³C-n.m.r.) foram obtidos:

a- Em aparelho BRUKER AC-300 acoplado a transformador de Fourier.

b- Em aparelho BRUKER CPX-300WB acoplado a transformador de Fourier.

As amostras foram solubilizadas em água deuterada (D₂O) ou NaOD 0,5N.

Os deslocamentos químicos foram expressos em p.p.m., relativos a ressonância de um padrão de DSS (4,4-dimetil 4-silopentano-sulfonato de sódio).

As cromatografias líquidas de alta eficiência foram feitas nos seguintes aparelhos:

a- Aparelho WATERS modelo 600E acoplado a um carrossel 712 WISP e a um refratmetro diferencial 410.

b- Aparelho WATERS, equipado com bomba modelo M 6000 A, um injetor universal UGK e equipado com um detetor por índice de refração R 401. As áreas dos picos foram calculadas por integrador Chromatopac modelo C-R 1B.

As amostras foram fracionadas em coluna aminex HPX-87P utilizando água como eluente e uma pressão média de 900 psi.

As dosagens de açúcar total foram realizadas pelo método do fenol-ácido sulfúrico⁵¹, utilizando-se soluções padrões de glucose e xilose (40 µg/ml) e efetuando-se leituras a 490 e 480 nm respectivamente.

A presença de ácidos urônicos foi investigada pelo método descrito por BLUMENKRANTZ e ASBOE-HANSEN¹⁸, usando-se como padrão ácido glucurônico 20 µg/ml e leituras de absorbância a 540nm.

Na investigação da presença de grupos O-acetil foi utilizado o método de HESTRIN⁵⁰ tendo como padrão de referência galactose penta-acetato contendo 2,5 μ mols/ml, efetuando-se leituras a 540nm.

Os teores de proteína foram determinados pelo método de LOWRY modificado⁷⁸, utilizando-se como padrão albumina bovina (50 μ g/ml) e efetuando-se leituras a 650nm.

3.1.1- Hidrólises ácidas^{1,10,16,20}

As hidrólises ácidas totais dos polissacarídeos foram feitas com ácido trifluor acético (TFA) ou ácido sulfúrico (H_2SO_4) nas seguintes condições, em tubos hermeticamente fechados.

a- TFA 1 N, durante 5 horas; ao final da hidrólise, o excesso de ácido era removido por evaporação.

b- Ácido sulfúrico 72% (V/V), durante 1h, a frio, seguido de diluição para 8% e banho de água fervente por 5h; após hidrólise, o ácido sulfúrico era neutralizado com carbonato de bário, e o sal resultante, insolúvel, removido por filtração.

3.1.2- Redução e acetilação dos produtos das hidrólises ácidas.

Os monossacarídeos resultantes das hidrólises foram reduzidos em solução aquosa com boroi-dreto de sódio ($NaBH_4$)¹⁸⁹ a temperatura ambiente, por 2h. O excesso do agente redutor foi decomposto e a remoção dos cátions sódio foi efetuado pela adição de resina LEWATIT S-100 (forma H^+). Após filtração, a solução era evaporada até a secura. Lavagens sucessivas com 2 ml de metanol (3 vezes), eram feitas a fim de eliminar o ácido bórico remanescente por codestilação com o metanol na forma de borato de trimetila.

Os alditóis resultantes eram então acetilados¹⁹⁰ a temperatura ambiente, com uma mistura de piridina e anidrido acético 1:1(V/V), por 16h. O processo de esterificação era interrompido pela adição de gelo moído e os produtos acetilados extraídos com 2ml de clorofórmio. A piridina residual na fase cloro-fórmica era removida por sucessivas lavagens com solução de $CuSO_4$ 5% e água. Os acetatos de alditóis resultantes foram analisados por g.l.c.

3.2- Obtenção dos polissacarídeos

3.2.1- Obtenção dos polissacarídeos das sementes de *Schizolobium amazonicum*.

As sementes de *Schizolobium amazonicum* foram fornecidas pelo engenheiro florestal Manoel Renato Machado, sendo provenientes da Região de Pimenta Bueno, no Estado de Rondônia e pela EMBRAPA de Belém, sendo coletadas na Floresta Nacional do Tapajós, no período de agosto a setembro de 1989.

Após pesagem, 500g de sementes secas foram submetidas a fervura em água destilada por um período de 30 minutos e deixadas na água por 48h, a 4°C. Uma vez inchadas as sementes, separou-se manualmente a película, o tegumento, o endosperma e o embrião de cada semente.

Os materiais isolados das sementes foram secos e então submetidos a moagem em moinho Wiley utilizando peneiras de 2mm e 1mm sucessivamente.

3.2.1.1- Obtenção dos polissacarídeos do endosperma das sementes de *Schizolobium amazonicum*

Utilizou-se 50g do endosperma moído que foi submetido a extrações exaustivas conforme o esquema 1 (p.45).

3.2.1.2 - Obtenção dos polissacarídeos do tegumento das sementes de *Schizolobium amazonicum*

Após a deslipidificação de 50g do tegumento moído utilizando-se uma mistura benzeno-etanol 2:1 (v/v) em aparelho Soxhlet. O resíduo seco, novamente pesado, foi submetido a uma série de extrações conforme o esquema 2 (p. 52).

3.2.2 - Obtenção dos polissacarídeos do tegumento das sementes de *Cassia fastuosa*.

Os frutos da *Cassia fastuosa* foram colhidos na cidade de Curitiba, no bairro Água Verde, em outubro de 1991.

As sementes inteiras foram fervidas em água destilada por 15 minutos e deixadas nesta água por 48h a 4°C para que inchassem. Após este período o tegumento das sementes foi removido manualmente,

seco, moído em moinho Wiley utilizando-se de 2mm e 1mm sucessivamente.

Após deslipidificação com benzeno-etanol (2:1) em aparelho Soxlet o tegumento moído foi pesado e submetido a uma série de extrações conforme o esquema³ (p. 55).

3.3- Desproteínização do polissacarídeo E₁ (galactomanana)

Uma solução aquosa da fração E₁ contendo 2g do polissacarídeo em 300 ml de água foi submetida a desproteínização pelo método de SEVAG modificado por STAUB¹⁶⁷. A mistura solução polissacarídica-clorofórmio-n-butanol numa relação 25:5:1 (V/V) foi mantida em agitação durante 12h, a 4°C. A proteína desnaturada foi removida por centrifugação. Separou-se a fase aquosa do sobrenadante que foi submetido mais uma vez ao processo de desproteínização.

A solução contendo a amostra desproteínizada foi concentrada e dividida em duas partes, uma foi congelada e liofilizada e a outra foi recuperada da fase aquosa por precipitação com etanol.

3.4- Oxidação do polissacarídeo E₁ com trióxido de cromo⁸¹

A amostra E₁ (100 mg), purificada pelo método de Sevag, foi solubilizada em 50 ml de formamida. Adicionou-se 5 ml de piridina e 5 ml de anidrido acético e a mistura reagente permaneceu a temperatura ambiente sob constante agitação durante 142h. A reação foi interrompida pela adição de gelo moído e o material acetilado foi extraído com clorofórmio. O excesso de piridina foi removido da fase clorofórmica por sucessivas lavagens com solução de CuSO₄ a 5%. Após secagem do material em aparelho ABDERHALDEN, a amostra foi submetida a análise por espectroscopia de infra-vermelho que mostrou a presença de grupos hidroxílicos. O processo de acetilação foi então repetido com adição de 4 ml de piridina e 4 ml de anidrido acético, ficando a mistura a temperatura ambiente, sob agitação por mais 48h. A análise por espectroscopia de infra-vermelho da amostra reacetilada e seca indicou a ausência de grupos hidroxílicos.

Pesou-se 40 mg do polissacarídeo peracetilado às quais foram adicionados 0,8 mg de xilitol penta acetato como padrão interno. Em seguida o material foi solubilizado em 1,1 ml de ácido acético e então colocou-se o CrO₃ (112 mg)⁸¹, permanecendo a mistura reativa em banho maria a 50°C. Foram retiradas alíquotas de 0,2 ml nos tempos 0,1,2 e 3h. Em cada alíquota, a reação era interrompida pela adição de 1 ml de água destilada e o produto era recuperado por extração com 1 ml de clorofórmio. Após evaporação do

solvente as aliquotas foram hidrolisadas com TFA 1M e analisadas por g.l.c. na forma de acetatos de aditóis.

3.5- Gel permeação em Sepharose 4B

Uma fração de 0,5 ml de solução contendo 4 mg da amostra E₁ foi aplicada na superfície do gel (coluna 1,7 x 43 cm) e eluída com água destilada. Frações de 2 ml foram coletadas e monitoradas para açúcar total com fenol-ácido sulfúrico⁵¹, e para proteínas por absorbância a 280 nm.

As aliquotas foram coletadas com coletor automático de frações LKB, Bromma, 7000 Ultrorac.

A coluna apresentava um fluxo médio de 18ml/h e foi calibrada com dextranos de diferentes pesos moleculares: 81.600; 266.000; 500.000; 2000.000 e 40000000 daltons (SIGMA CHEMICAL CO).

O volume de eluição do dextrano de 40 MD foi considerado o volume morto da coluna.

Calculou-se para cada dextrana, o coeficiente de partição Kav, conforme a equação abaixo.

$$K_{av} = \frac{V_e - V_o}{V_t - V_o} \quad \text{onde:}$$

V_e= volume de eluição da amostra

V_o= volume morto da coluna

V_t= volume total da coluna

3.6- Oxidação com metaperiodato de sódio

O polissacarídeo E₁ anteriormente purificado (25mg/5ml) foi adicionado de 5 ml de solução de metaperiodato de sódio 0,1 N⁷⁷. A oxidação foi conduzida, a temperatura ambiente, sob agitação e na ausência de luz, durante 7 dias.

O excesso de agente oxidante foi decomposto pela adição de 1 ml de etileno glicol, sob agitação, durante 1h. Após este período a solução oxidada foi dialisada contra água corrente por 18h, reduzida e novamente dialisada nas mesmas condições.

A fração não dialisável foi concentrada e dividida em duas aliquotas. A primeira foi hidrolisada, reduzida, acetilada e analisada por g.l.c., e a outra foi submetida a novo processo de oxidação e então preparada para análise por g.l.c.

As amostras M e SA_I foram solubilizadas (25mg) em solução de NaOH 1N, neutralizadas e então submetidas a oxidação com o metaperiodato de sódio, conforme descrito anteriormente.

3.7- Análises de metilação

3.7.1- Metilação do polissacarídeo E_I

Método de HAWORTH⁷⁹

Solubilizou-se 30 mg do polissacarídeo E_I anteriormente purificado em 5ml de água destilada, e adicionou-se à solução previamente reduzida com NaBH₄, 5ml de solução de NaOH 80% e 2 ml de acetona. Aliquotas de 0,3 ml de dimetil sulfato foram acrescentados em intervalos de 30 minutos, por dez vezes. A solução reagente permaneceu sob agitação, a temperatura ambiente por mais 18h após o último acréscimo do agente metilante, e então novas porções de NaOH 40% e dimetil sulfato foram adicionados ao ensaio nas mesmas condições já descritas. Aguardou-se 1 h após o último acréscimo do agente metilante e então adicionou-se 50 ml de água e o sistema foi levado a ebulição sob refluxo por 30 minutos. Após resfriamento o meio foi neutralizado com ácido acético concentrado, em banho de gelo, utilizando-se fenolftalcina como indicador e então foi dialisado por 48 h e seco a vácuo.

Método de CIUCANU e KEREK³⁵

Após a secagem, o polissacarídeo parcialmente metilado pelo método de HAWORTH foi solubilizado em 3 ml de DMSO, sendo acrescentado 200 mg de hidróxido de sódio pulverizado e seco e agitado por 10 minutos em aparelho Vortex. Adicionou-se 0,5 ml do agente metilante, CH₃I, e ao final de 10 minutos de agitação, a reação foi interrompida vertendo-se a mistura reacionante em água gelada acidificada com ácido acético e verificando-se a neutralidade do meio final. O polissacarídeo metilado foi extraído com clorofórmio, lavado com tiosulfato de sódio para eliminar o iodo livre e então lavado com água cerca de 10 vezes.

O material permetilado foi analisado por espectroscopia de infra-vermelho e submetido a hidrólise de Saeman^{16,20}, reduzido, acetilado e analisado por g.l.c. e g.l.c.-m.s.

3.7.2- Metilação de M.

A amostra M foi triturada em almofariz de porcelana e 30 mg do pó mais fino foram solubilizadas em 10 ml de NaOH 40% em presença de NaBH_4 , sendo realizadas duas metilações pelo método de HAWORTH⁷⁹ seguido de uma metilação segundo CIUCANU e KEREK³⁵, conforme já descrito (item 3.7.1)

O produto metilado foi hidrolisado e analisado sob a forma de acetatos de alditóis por g.l.c. e g.l.c.-m.s.

3.7.3- Metilação das frações SA_I , C_{II} e CA_{II}

Cada amostra foi seca, solubilizada em 3 ml de DMSO e metilada pelo método de CIUCANU e KEREK³⁵. Para as frações C_{II} e CA_{II} o processo de metilação foi feito duas vezes pelo mesmo método.

As amostras metiladas foram hidrolisadas, reduzidas e acetiladas para análise por g.l.c. e g.l.c.-m.s.

3.8- Determinação da massa molecular do polissacarídeo E_I por "light scattering"

Uma solução do polissacarídeo E_I 0,5g/l em água, posteriormente filtrada em membrana Millipore de 0,2 μm foi utilizada para determinação da massa molecular através do método de difusão ou espalhamento de luz ("light scattering") empregando-se a técnica de medição dinâmica.

As medidas foram efetuadas através de um aparelho de difusão de luz CMX 100 CROMATIX e um refratômetro diferencial IOTA. Os detectores encontram-se na saída de duas colunas de cromatografia de gel permeação montadas em série, OH pak B-804 e OH pak B-805, que permitem a extrapolação gráfica da concentração e da massa molecular, respectivamente. As colunas são alimentadas por uma bomba WATERS 6000, à um fluxo de 1 ml/min utilizando-se uma solução de nitrato de sódio 0,1 N.

3.9- Germinação das sementes de *Schizolobium amazonicum*

As sementes de *Schizolobium amazonicum* foram colocadas em água a 100°C e deixadas nesta água para inchar por 18h. Após este período foram selecionadas apenas as sementes inchadas e estas foram colocadas sobre um leito de vermiculita umedecida.

A água para manter a umidade do meio era repostada diariamente.

Após 15 dias das sementes germinadas (% de germinabilidade= 83%) separou-se o endosperma remanescente e o tegumento que foram secos, moídos e submetidos a hidrólise.

3.10- Determinação de viscosidade

As viscosidades foram determinadas em viscosímetro capilar modelo UBBELHODE, a 25°C, em banho termostatzado FANEN-UNITEMP, em concentrações de 0,3 a 1,5 mg/ml.

O cálculo das viscosidades relativas foi feito relacionando-se o tempo de escoamento das soluções em diferentes concentrações e do solvente (água destilada) conforme a relação:

$$n_{rel} = \frac{n}{n_o} = \frac{t}{t_o}$$

onde: n = viscosidade absoluta da solução de polímero

n_o = viscosidade absoluta do solvente

t = tempo de escoamento da solução

t_o = tempo de escoamento do solvente

Para a determinação das viscosidades específicas utilizou-se a expressão:

$$n_{sp} = n_{rel} - 1$$

As viscosidades reduzidas foram obtidas pela relação

$$n_{red} = \frac{n_{sp}}{C}$$

onde: C = concentração da solução polimérica.

A viscosidade intrínseca $[\eta]$ foi determinada em um gráfico $n_{red} \times C$, extrapolando-se o valor da viscosidade reduzida para concentração zero.

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} n_{red}$$

3.11- Interação com outros polissacarídeos

Misturas dos polissacarídeos E_I com xantana (KELTROL) nas proporções 4:1; 3:1; 2:1; 1:1; 1:2; 1:3 e 1:4, respectivamente, em concentração total de 0,1% tiveram suas viscosidades relativas determinadas em viscosímetro capilar UBBELHODE, a 30°C.

Misturas do polissacarídeo E_{IV} com xantana nas mesmas proporções e concentração total, anteriormente descritas, tiveram suas viscosidades relativas determinadas a 30°C, utilizando-se um viscosímetro de OSTWALD (bulbo 300).

Prepararam-se soluções do polissacarídeo E_I , de k-carragenana (SIGMA) e de xantana em concentração de 1%. Foram feitas misturas da solução do polissacarídeo E_I , isoladamente com as soluções de k-carragenana e xantana, nas proporções: 4:1; 3:1; 2:1; 1:1; 1:2; 1:3 e 1:4.

As misturas eram aquecidas a 80-85°C por 15 minutos e deixadas sob resfriamento a 4°C.

A rigidez relativa dos géis foi determinada utilizando-se um penetrômetro com cone de aço inoxidável de 6,5 cm de diâmetro. O recipiente contendo a amostra era centralizado na mesa do aparelho e com o cone na posição zero era ajustada sua altura de modo que a ponta apenas toca-se a superfície do centro da amostra. Ajustada a altura do sistema, o dispositivo era solto, fornecendo uma leitura em décimos de milímetros de penetração (conforme norma ABNT P-MB-537 1970 utilizada para determinar a consistência de graxas lubrificantes).

4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1- Obtenção dos polissacarídeos

Em consulta realizada junto ao professor João Chimello, do IPT, o *Schizolobium amazonicum* consta como sendo uma das leguminosas nativas, de madeira útil e reflorestamento promissor.

Em vista disto, as sementes do *Schizolobium amazonicum* foram escolhidas para dar continuidade a linha de pesquisas na área de galactomananas, do Laboratório de Química de Carboidratos Vegetais do Departamento de Bioquímica, que busca novas fontes nativas destes polissacarídeos.

4.1.1- Obtenção e composição monossacarídica dos polissacarídeos do endosperma das sementes de *Schizolobium amazonicum*.

As sementes do *Schizolobium amazonicum* (pinho cuiabano) são relativamente grandes, o que possibilitou o isolamento do endosperma, desejável para a obtenção de uma galactomanana mais pura.

O percentual de endosperma nas sementes de pinho cuiabano foi de 34%, que pode ser considerando elevado, e está dentro da faixa de valores descrito para espécies leguminosas Caesalpinioideas, 8 a 40%¹⁸⁶

A fervura utilizado no processo de separação do endosperma é eficiente para a inativação de enzimas¹⁰².

O endosperma da semente moído foi extraído sequencialmente com água a 25°C duas vezes, água a 80°C três vezes, NaOH 2N uma vez e NaOH 4N uma vez (Esquema 1, Tabela I).

Os altos percentuais de manose e galactose, indicam que as extrações aquosas deram origem a galactomananas com diferentes conteúdos de galactose, sugerindo a ocorrência de uma "família" destes polissacarídeos.

Esquema 1 - Extração dos polissacarídeos do endosperma das sementes de *Schizolobium amazonicum*.

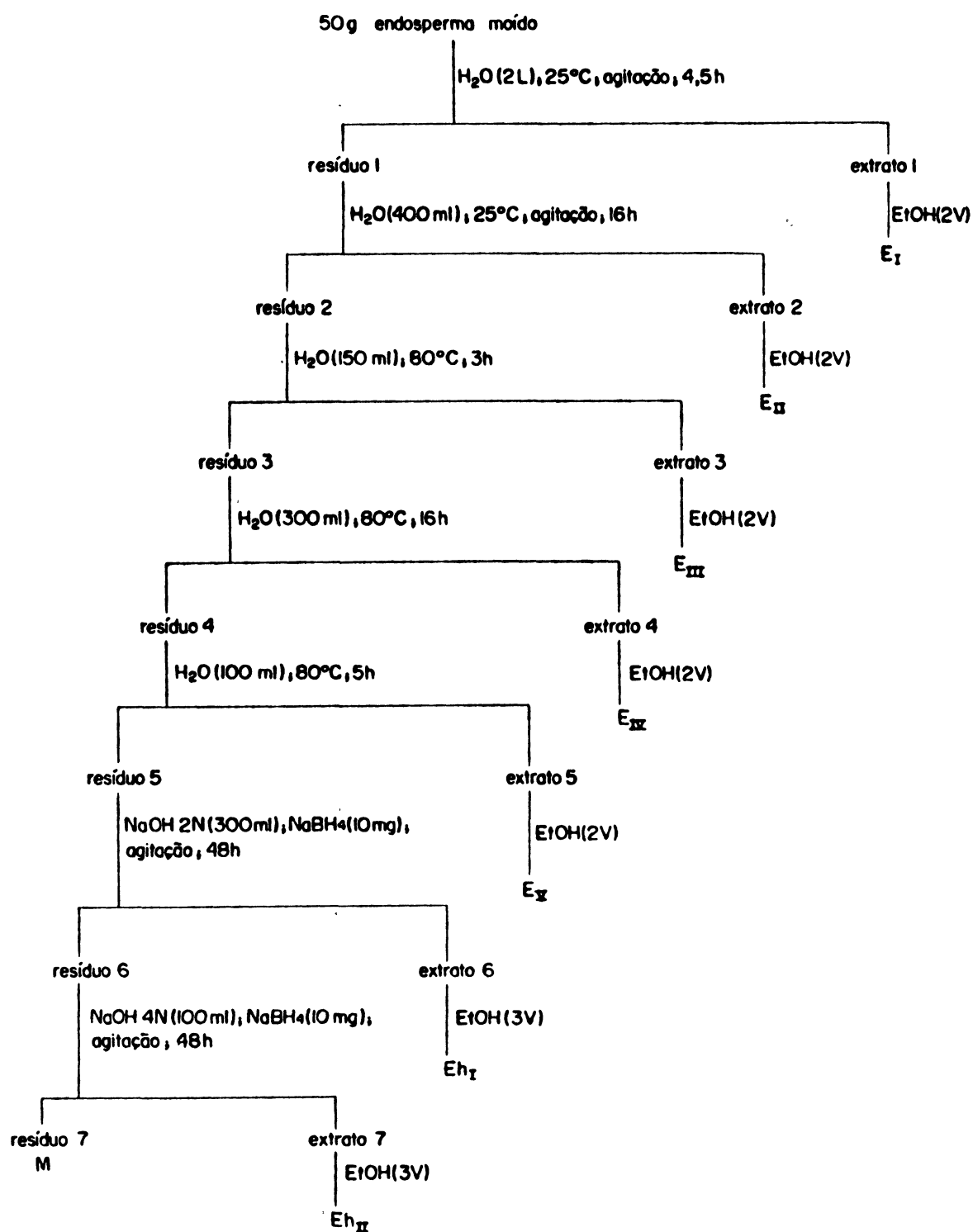


Tabela I - Composição monossacarídica das frações obtidas por extrações aquosas e alcalinas sequenciais do endosperma das sementes de *Schizolobium amazonicum*.

Frações	Rendimento*	Composição monossacarídica**			Manose: Galactose	
		mol%			Manose	Galactose
Polissacarídicas	g%	Ara	Man	Gal	G.l.c.	H.P.L.C.
E _I	50,0	1,8	68,4	29,8	2,3:1	3,0:1
E _{II}	6,4	1,6	76,0	23,2	3,3:1	4,0:1
E _{III}	1,6	1,4	77,5	21,1	3,7:1	4,3:1
E _{IV}	2,6	1,7	79,4	18,9	4,2:1	n.d.
E _V	0,3	7,1	78,4	14,4	5,4:1	6,0:1
Eh _I	4,8	5,7	77,6	16,7	---	---
Eh _{II}	1,7	14,5	65,2	20,3	---	---
M	4,0	tr	97,9	2,1	---	---

* Rendimento em relação ao endosperma

** Determinado por g.l.c.

Para o *Schizolobium amazonicum* foram obtidas cinco galactomananas (E_I, E_{II}, E_{III}, E_{IV} e E_V) com valores crescente de relação manose: galactose, e que em consequência disto devem ter diferentes propriedades e aplicações.

O aumento na relação manose: galactose, nas extrações exaustivas, está de acordo com a solubilidade destes polissacarídeos, que é esperada diminuir com a redução no conteúdo de galactose⁴².

A ocorrência de uma "família" de galactomananas no endosperma das sementes de uma mesma espécie já foi descrita para *Gleditsia triacanthos*, onde foram isolados quatro grupos de galactomananas com diferentes relações manose: galactose, obtidas por extrações aquosas a diferentes temperaturas¹¹⁰.

Das sementes de *Borassus flabellifer* foram isoladas duas galactomananas tendo relações manose: galactose de 2,4:1 e 10:1¹³⁴.

Parece que, mesmo as galactomananas de guar e alfarrobo podem ser fracionadas em água fria e quente, fornecendo polissacarídeos com diferentes conteúdos de galactose⁴⁹.

Nas sementes de *Glycine max*, onde a galactomanana localiza-se na casca, a extração aquosa a temperatura ambiente e a 60°C, fornece polissacarídeos com relação manose: galactose de 1,14:1 e 2,35:1, respectivamente⁹.

O rendimento de galactomananas nas extrações aquosas, em relação ao endosperma foi de 61%, o que corresponde a 20% do peso das sementes secas ao ar.

Observa-se que a maior parte da galactomanana foi obtida na primeira extração, representando 82% do conteúdo total de galactomananas solúveis em água. Esta fração de maior rendimento (E_I), foi escolhida para estudos estruturais.

O rendimento para o *Schizolobium amazonicum* situa-se entre os níveis mais elevados de galactomananas de leguminosas, que estão na faixa de 15 a 38% do peso da sementes seca⁴⁸.

Em todas as frações extraídas do endosperma a presença de pequenas quantidades de arabinose foi observada.

Nas frações hemicelulósicas (Eh_I e Eh_{II}) observou-se também a presença de rhamnose, xilose e glucose.

A hidrólise do resíduo M das extrações realizadas com endosperma das sementes de *Schizolobium amazonicum* (esquema 1) mostrou a presença de manose como componente, indicando tratar-se de uma manana. Este polissacarídeo foi analisado por metilação e oxidação com periodato.

Nas galactomananas, a presença de pentoses já foi observada em outras espécies, como *Indigofera tinctoria*, *Sesbania aegyptiaca*, *Cassia alata*, *Stryphnodendron barbatiman*, *Cassia reginera* e *Gleditsia triacanthos*, sendo consideradas como contaminantes.^{15,110,139,155,156,157,186}

Já foi sugerido por certos autores que estas pequenas proporções de pentoses que ocorrem junto as galactomananas possam estar ligadas a estes polissacarídeos¹¹⁰.

Para o *Schizolobium amazonicum*, quando a galactomanana foi extraída a 4° C, a presença de arabinose não foi observada, sugerindo que estas unidades não estão ligadas a galactomanana.

Quando as sementes de *Schizolobium amazonicum* foram germinadas, a composição do endosperma remanescente após a germinação mostrou um decréscimo nas quantidades de manose e galactose e um aumento relativo do conteúdo de arabinose, quando comparados aos percentuais presentes no endosperma antes da germinação (Tabela II). Isso indica que uma parte da galactomanana foi consumida durante a germinação, conforme era esperado. O aumento na quantidade de arabinose também pode ser encarado como um indicio de que tais unidades não ocorram ligadas a galactomanana que é utilizada na germinação.

Para o tegumento, antes e após a germinação, observou-se que a quantidade de arabinose praticamente não variou.

A relação manose:galactose, determinada para o endosperma total, foi a mesma para sementes antes e após a germinação, o que está de acordo com as observações feitas por Reid¹⁴¹ para as sementes de *Trigonella foenum-graecum*. Entretanto, para o *Schizolobium amazonicum*, nem toda a galactomanana, foi degradada por ocasião da germinação, conforme descrito pelo mesmo autor para a galactomanana de *Trigonella foenum-graecum*.

Tabela II - Composição monossacarídica do endosperma total das sementes de *Schizolobium amazonicum* antes e após germinação.

	Composição monossacarídica*						Relação Manose:Galactose
	mol%						
	Rha	Ara	Xil	Man	Gal	Glc	
Antes da germinação	tr	2,6	tr	66,4	31,0	tr	2,1:1
Após a germinação	9,5	16,7	13,1	34,5	16,6	9,6	2,1:1

* determinada por g.l.c.

Já foi observado que estas mesmas sementes são capazes de germinar na ausência da galactomanana, utilizando apenas os substratos de reserva contidos no embrião¹⁴³. Isto sugere que talvez a maior importância da galactomanana na germinação esteja na sua capacidade de manter o balanço hídrico adequado na fase anterior a germinação, e durante a mesma absorvendo grandes quantidades de água.

A influência da galactose no comportamento ótico das galactomananas pode ser observada na

sequência de galactomananas do *Schizolobium amazonicum*. A medida que decresce o conteúdo de ramificações de α -galactose na cadeia da β -manana, a rotação ótica específica altera-se desde valores positivos de $+29,6^\circ$ para a galactomanana mais substituída E_I , e $+11,8^\circ$ para a galactomanana E_{II} assumindo a partir de E_{III} valores negativos e decrescentes com a redução do conteúdo de galactose, como o esperado.

Este comportamento também pode ser verificado para as galactomananas de *Mimosa scabrella*, *Stryphnodendron barbatiman* e *Schizolobium parahybum* com relação manose:galactose e rotação ótica específica de 1,1:1,+76,9 $^\circ$; 1,5:1,+54,7 $^\circ$ e 3,0:1,+32,3 $^\circ$, respectivamente⁶³.

Noble et al.¹²⁵ correlacionaram a rotação ótica específica com o conteúdo de galactose para uma ampla faixa de galactomananas. Estes estudos forneceram uma relação linear entre a rotação ótica específica e a proporção de galactose, que obedece a equação $[\alpha]_D = 268g - 44,5$, g = conteúdo de galactose na galactomanana.

Quando esta equação é aplicada a fração E_I , o valor da rotação ótica específica observado indica para este polissacarídeo um conteúdo de galactose de 0,28, que corresponde a média entre os valores determinados por g.l.c.(0,30) e HPLC (0,25).

Kooiman⁹⁹ e Leschziner e Cerezo¹⁰⁴ também utilizaram o fato de que a primeira aproximação, a rotação ótica específica de um polissacarídeo depende da proporção relativa das formas α e β para desenvolver equações empíricas relacionando a composição de galactomananas com suas rotações. Somente 12 das 75 galactomananas consideradas apresentaram desvios dos valores previstos. Os autores sugerem que a falta de correspondência entre os valores experimentais e calculados, nestes casos se devem a erro experimental na medida da rotação ótica devido a opalescência das soluções ou erros na determinação da composição ou ainda a desvios da estrutura usual da galactomananas.

Muitos autores acreditam que o rendimento e a relação manose:galactose nas galactomananas de leguminosas pode ser utilizado como critério taxonômico^{22,42,48}.

Entretanto esta possibilidade é bastante questionável, principalmente quando uma família de galactomananas está presente nas sementes de uma mesma espécie. Nestes casos, a presença de uma ampla faixa de relações manose:galactose, além de gerar a dúvida de qual o valor deva ser adotado para a comparação, pequenas modificações podem fornecer grupos de polissacarídeos diferentes. Assim, as extrações aquosas sequenciais do endosperma das sementes de *Schizolobium amazonicum* a 25 $^\circ$ C e 80 $^\circ$ C forneceram galactomananas com relação manose:galactose 2,3:1; 3,3:1; 3,7:1; 4,2:1 e 5,4:1, enquanto que quando as extrações foram feitas a 4 $^\circ$ C, 25 $^\circ$ C e 80 $^\circ$ C, as relações obtidas foram: 2,1:1; 2,5:1; 4,1:1 e 5,7:1.

Uma possível solução para estes problemas seria a utilização da relação manose:galactose determinada pela hidrólise do endosperma total, sem extração prévia, utilizando o método de Sacman.

A tabela III mostra os valores manose:galactose obtidos por hidrólise dos endospermas totais isolados das sementes de diferentes espécies.

Tabela III - Relação manose:galactose para diferentes espécies obtidas pela hidrólise do endosperma total.

Espécie	Manose:galactose*
<i>Schizolobium amazonicum</i>	2,1:1
<i>Schizolobium parahybum</i>	2,1:1
<i>Stryphnodendron barbatiman</i>	1,6:1
<i>Senna multijuga</i>	2,4:1
<i>Mimosa scabrella</i>	1,1:1

*determinado por g.l.c.

Para o *Stryphnodendron barbatiman*, *Senna multijuga* e *Mimosa scabrella* os valores obtidos por esta técnica concordam com os valores, estabelecidos anteriormente por extração aquosa das galactomananas, 1,5:1, 2,3:1 e 1,1:1, respectivamente^{62,135,139}.

Para as espécies *Schizolobium* a hidrólise do endosperma total forneceu valores manose: galactose iguais, provavelmente por tratar-se do mesmo gênero. Os valores obtidos possivelmente correspondam ao caráter médio da família de galactomananas presentes nestas sementes.

4.1.2- Obtenção e composição monossacarídica dos polissacarídeos do tegumento das sementes de *Schizolobium amazonicum*.

O tegumento das sementes de *Schizolobium amazonicum* representa 27% do peso da semente inteira. Este mesmo percentual foi determinado para as sementes de *Gleditsia triacanthos*¹¹².

O tegumento das sementes de *Schizolobium amazonicum* após moagem e deslipificação foi extraído sequencialmente com água a 25°C, água a 80°C, NaOH 2N e NaOH 4N (Esquema 2, Tabela IV). Em todas as frações, com exceção de SB_{II}, o componente principal em açúcar foi a arabinose. A fração SA_I mostrou ser composta exclusivamente de arabinose, indicando a presença de uma arabinana.

A fração SA_I (arabinana) foi submetida a análise estrutural.

A ocorrência de uma arabinana linear no tegumento das sementes de *Schizolobium parahybum* foi descrita por Zawadski-Baggio et al.¹⁹¹

A composição do tegumento das sementes de *Gleditsia triacanthos* foi estudada por Mazzini e Cerezo¹¹² que constataram a presença de 0,7% de lipídios e 7,0% de proteínas. A hidrólise ácida do tegumento mostrou a presença de arabinose, fucose, xilose, galactose, glucose, ácido galacturônico e um resíduo que foi resistente a hidrólise. No hidrolisado a arabinose foi o principal componente (52%) Quando o tegumento foi extraído com água quente, a hidrólise do extrato forneceu os mesmos monossacarídeos que o hidrolisado do tegumento além de manose. Entretanto os percentuais dos açúcares foram diferentes e neste caso o maior percentual foi de xilose (27,5%)

A fim de verificar se a ocorrência de arabinanas no tegumento de sementes era um fato exclusivo das espécies *Schizolobium* ou se incluía outras espécies leguminosas, foi realizada uma triagem com os tegumentos de *Senna multijuga*, *Mimosa Scabrella*, *Stryphnodendron barbatiman* e *Cassia fastuosa*. A composição monossacarídica do tegumento total (sem extração prévia) foi determinada por hidrólise de Sacman para cada uma das espécies (Tabela V)

Os altos percentuais de arabinose nos tegumentos das sementes de *Stryphnodendron barbatiman*, *Mimosa Scabrella* e *Cassia fastuosa* podem indicar a presença de uma arabinana também nestas espécies.

Esquema 2 - Extração dos polissacarídeos do tegumento das sementes de *Schizolobium amazonicum*.

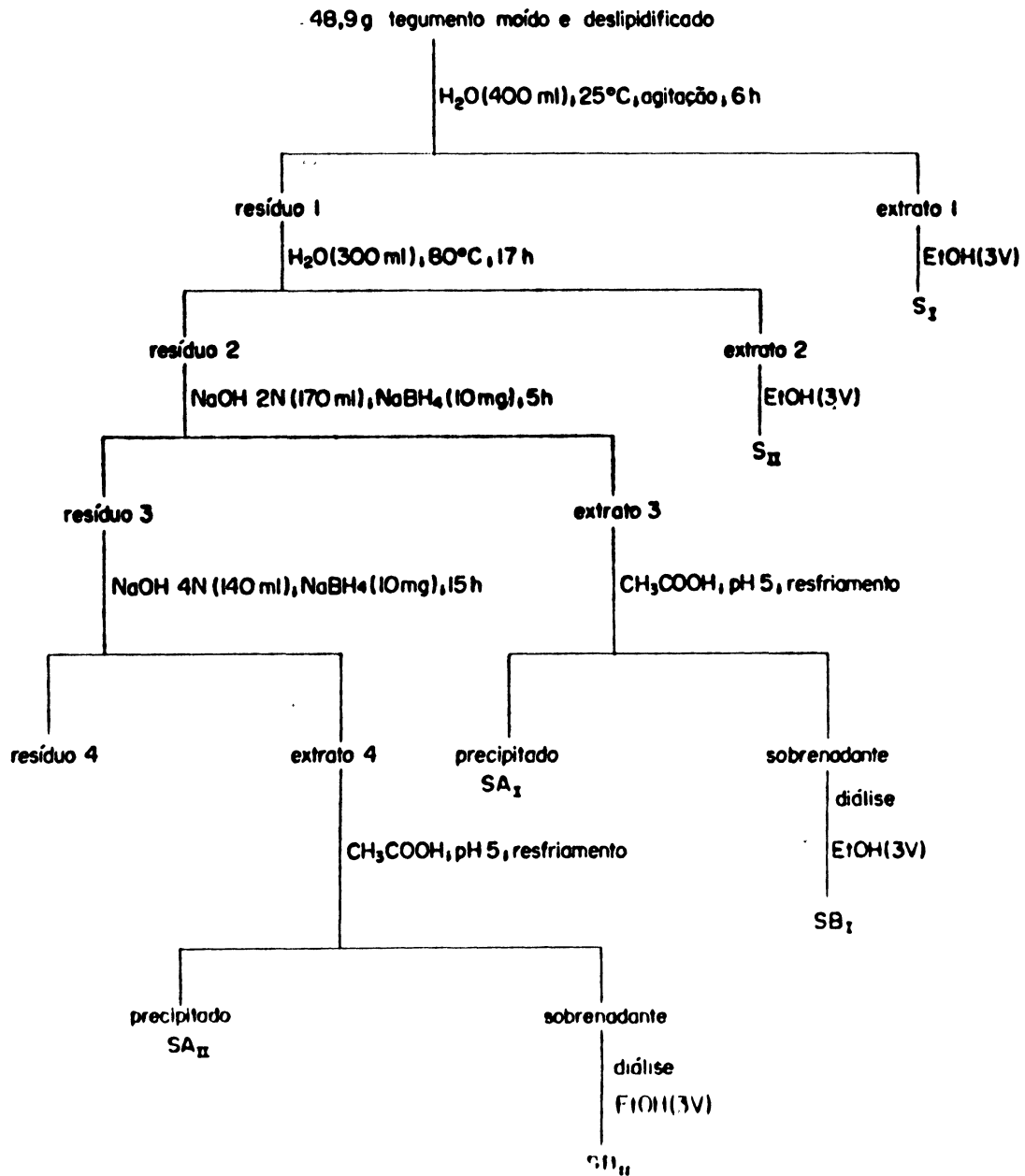


Tabela IV - Composição monossacarídica das frações obtidas por extrações aquosas e alcalinas do tegumento das sementes de *Schizolobium amazonicum*

Fração	Rendimento	Composição monossacarídica**					
		móis%					
polissacarídica	em peso (g%)	Rha	Ara	Xil	Man	Gal	Glc
S _I	2,5	3,7	43,6	5,3	21,6	20,8	5,0
S _{II}	0,6	1,4	61,7	5,9	12,4	14,1	4,5
SA _I	0,2	---	100	---	---	---	---
SB _I	0,9	1,9	25,2	17,8	22,4	21,5	11,2
SA _{II}	3,3	tr	57,7	7,7	16,7	5,1	12,8
SB _I	1,0	tr	13,8	11,3	36,1	14,2	24,5

* Rendimento em relação ao tegumento deslipidificado.

** Determinada por g.l.c.

Para a *Senna multijuga* o alto percentual de xilose está de acordo com a presença de uma xilana descrita por Rechia¹³⁵, que estudou os polissacarídeos destas sementes. Assim, parece que para esta espécie não ocorre uma arabinana no tegumento das sementes e sim uma xilana, indicando que a presença de arabinanas não é um fato extensivo a todas as sementes de leguminosas.

Devido ao elevado teor de arabinose e maior facilidade na remoção do tegumento, a *Cassia fastuosa* foi escolhida para maiores investigações quanto a presença de uma arabinana.

Tabela V - Composição monossacarídica do tegumento total de diferentes espécies.

Espécie	Composição monossacarídica* móis%					
	Rha	Ara	Xil	Man	Gal	Glc
<i>Senna multijuga</i>	4,8	10,4	27,3	3,3	3,9	50,3
<i>Mimosa scabrella</i>	9,3	30,6	13,9	11,5	10,9	23,8
<i>Stryphnodendron barbatiman</i>	12,8	28,8	9,3	3,4	6,8	58,9
<i>Cassia fastuosa</i>	8,7	54,1	9,2	3,8	10,0	14,2

* Determinada por g.l.c após hidrólise de Saeman.

4.1.3- Obtenção e composição monossacarídica dos polissacarídeos do tegumento das sementes de *Cassia fastuosa*

O tegumento das sementes de *Cassia fastuosa* moído e deslipidificado, foi submetido a extrações sequenciais com água a 25°C e 80°C, NaOH 2N e 4N (Esquema 3, Tabela VI). A arabinose é o principal componente de todas as frações polissacarídicas obtidas. Nas frações C_{II} e CA_{II} a arabinose é praticamente o único componente em açúcar, sugerindo a presença de duas arabinanas no tegumento das sementes da *Cassia fastuosa*. Estas duas frações foram analisadas por metilação e ¹³C-n.m.r.

4.2- Análise da fração E_I (galactomanana) do endosperma das sementes de *Schizolobium amazonicum* (pinho cuiabano)

A galactomanana (fração E_I), com relação manose:galactose 3,0:1 (HPLC), apresentou 3% de proteína. Após o tratamento de desproteínização este valor foi reduzido para 2%. A permanência de uma certa quantidade de proteína, mesmo após o processo de desproteínização parece ser um fato comum entre as galactomananas de diferentes espécies. Amostras purificadas de galactomananas de guar, lucerne, alfarrobo, *Gleditsia triacanthos*, *Mimosa scabrella*, *Senna multijuga* e *Stryphnodendron barbatiman* continham pequenas quantidades de proteína.^{102,113,135} Mazzini e Cerezo sugerem a possibilidade de associação entre a galactomanana e a proteína¹¹³.

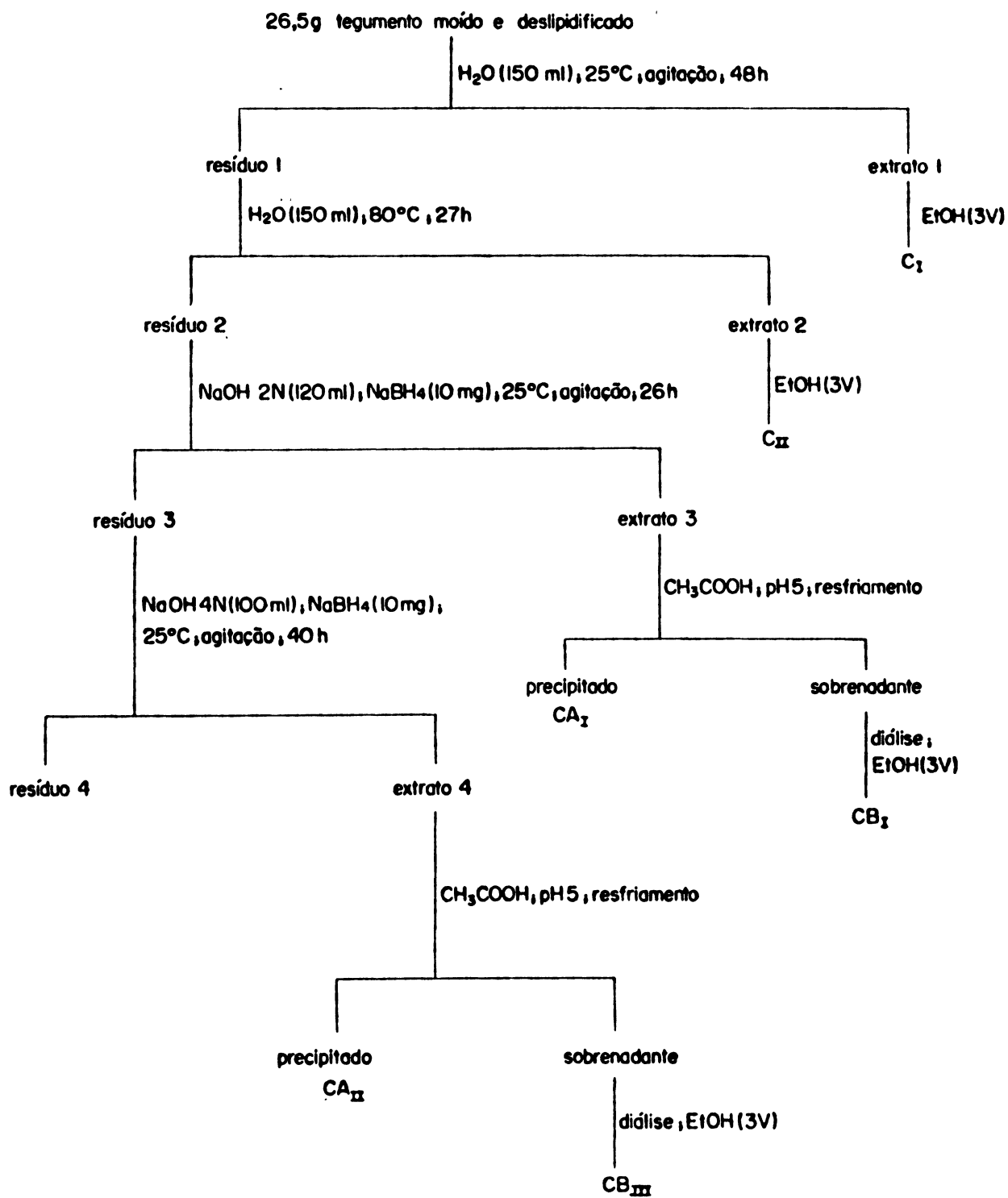
Esquema 3 - Extração dos polissacarídeos do tegumento das sementes de *Cassia fastuosa*.

Tabela VI - Composição monossacarídica das frações obtidas por extrações aquosas e alcalinas do tegumento das sementes da *Cassia fastuosa*

Fração polissacarídica	Rendimento* em peso (g%)	Composição monossacarídica ** móis%					
		Rha	Ara	Xil	Man	Gal	Glc
C _I	0,8	3,0	38,0	36,4	10,3	11,2	1,1
C _{II}	5,1	tr	99,0	tr	tr	tr	---
CA _I	1,5	1,1	56,8	28,8	2,4	7,3	3,5
CB _I	4,6	2,5	41,5	41,1	3,1	9,2	2,6
CA _{II}	2,8	tr	99,0	tr	tr	tr	tr
CB _{II}	4,6	7,9	50,3	11,3	6,9	15,6	8,0

*Rendimento em relação ao tegumento deslipidificado

**Determinada por g.l.c.

A massa molecular da galactomanana de pinho cuiabano foi determinada através do método de difusão ou espalhamento de luz ("light scattering") fornecendo um valor de massa molecular ponderal média (\bar{M}_w) de 710.000. Esta técnica permite ainda a determinação de outros parâmetros como o raio de giração (Rg) e a massa molecular numérica média (\bar{M}_n). A solução da galactomanana apresentou um Rg de 511 Å, que corresponde a uma conformação enovelada ("random coil"), o que está de acordo com o esperado para as soluções destes polímeros.^{42,150}

Tanford⁴² considera homogêneos, os polímeros que apresentam valores \bar{M}_w e \bar{M}_n próximos. Nenhum polossacarídeo mostrou ser homogêneo segundo este critério e assim quanto mais distante da unidade a razão \bar{M}_w , maior a polidispersidade. Para a galactomanana de *Schizolobium amazonicum*, fração E_I, filtrada em membrana de 0,2µm, este coeficiente foi de 1,2, um índice de baixo grau de polidispersidade, segundo este critério.

As galactomananas, como outros polímeros naturais são consideravelmente polidispersas, embora as condições utilizadas no processo de isolamento possam seleccionar um grupo de moléculas com grau de polidispersidade diferente daquele presente no material inicial.^{42,48,64,110}

Uma amostra do polissacarídeo E₁, desproteínizado pelo método de Scvag, foi analisada por gel permeação³³ em coluna de Sepharose 4B. A amostra foi eluída com água e o perfil de eluição foi observado para carboidrato e proteína, conforme a figura 1.

A figura 1 mostra que uma parte da proteína eluiu simultaneamente com o polissacarídeo o que pode indicar a existência de ligação covalente entre a galactomanana e a parte proteica resistente ao tratamento desproteínizante.

A análise em gel permeação das galactomananas de *Senna multijuga* e *Stryphnodendron barbatiman* também mostra coincidência na eluição do polissacarídeo e de sua porção proteica.^{102,135}

Certos autores consideram que as galactomananas possam ser peptidoglicanas, embora este fato não tenha ainda sido comprovado.¹¹³

Para a determinação da massa molecular a coluna foi calibrada com padrões de dextranas de massas moleculares conhecidos (81600 a 2.000.000 daltons). O volume de eluição de uma dextrana de 40 MD forneceu o volume morto da coluna. Com os valores dos coeficientes de partição(K_{av}) dos padrões e suas massas moleculares construiu-se uma reta, através da qual foi possível determinar a massa molecular da galactomanana(figura 2).

A massa molecular para a galactomanana(fração E₁) determinada por esta técnica foi de aproximadamente 1.700.000 daltons, diferindo do valor determinado por "light scattering" 710.000.

Os valores de massa molecular dependem da técnica utilizada. Uma amostra comercial de guar apresentou por medidas osmométricas uma massa molecular numérica média (\bar{M}_n) de 240.000, enquanto que a massa molecular ponderal média (\bar{M}_w), determinada por "light scattering" e medidas viscosimétricas foi de 950.000⁴².

A determinação da massa molecular da galactomanana (fração E₁) pela técnica de espalhamento de luz ("light scattering") envolveu a filtração prévia da solução em membrana de 0,2 μ m, eliminando a presença de possíveis formas agregadas. Isto sugere que a ocorrência de agregados moleculares pode ter influenciado no alto valor de massa molecular obtido por gel permeação.

Devido a sua relação manose: galactose de 3,0:1, a galactomanana de *Schizolobium amazonicum* (fração E₁) apresenta possibilidade razoável de agregação, já que elas surgem da associação lateral entre segmentos moleculares não substituídos da cadeia principal¹¹⁸.

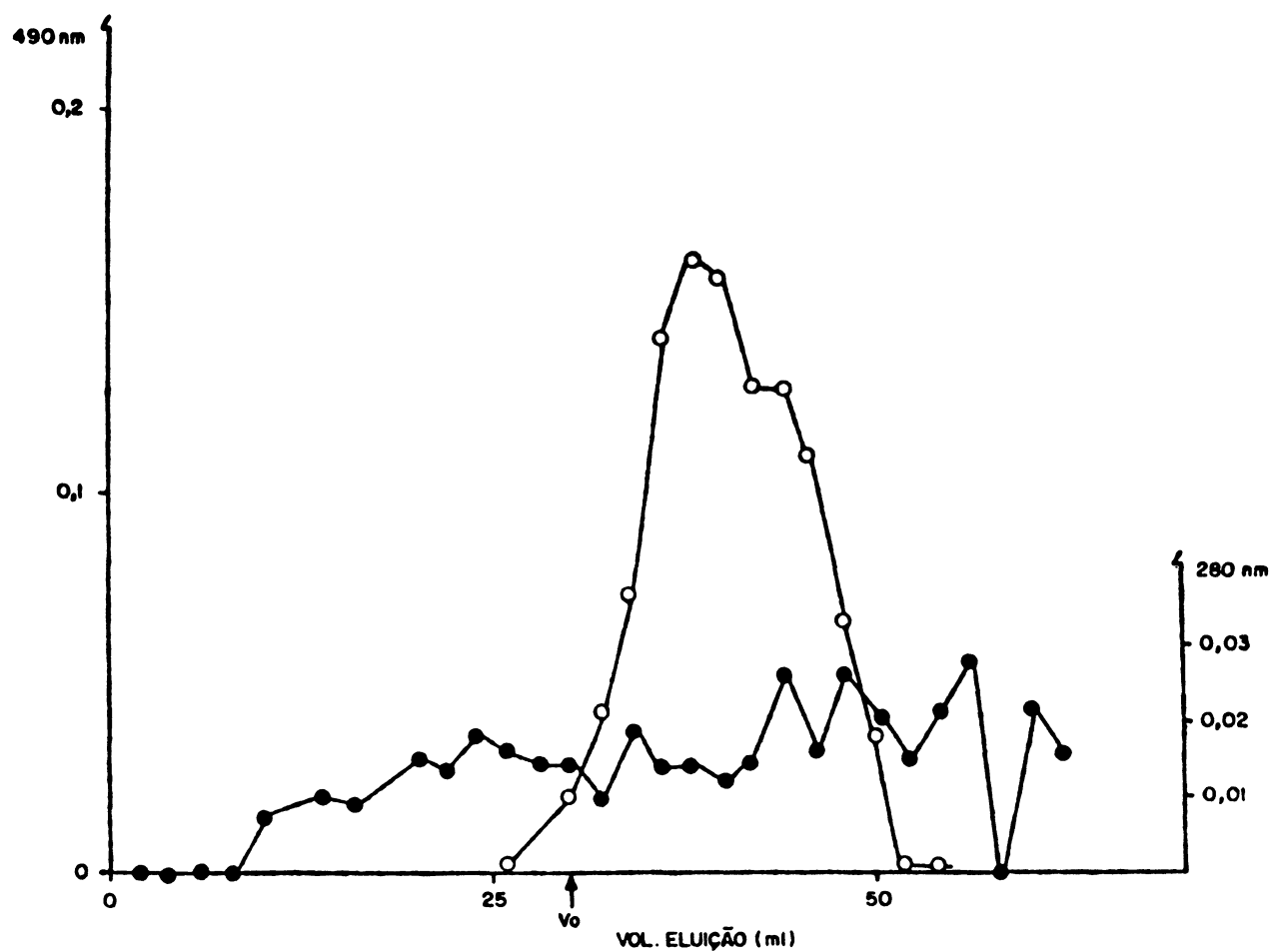


Figura 1 - Filtração em Sepharose 4B (coluna 43x1,7 cm, d i.) da galactomanana (fração E₁) de *Schizolobium amazonicum* eluída com água.

(—○—) açúcar total

(—●—) proteína

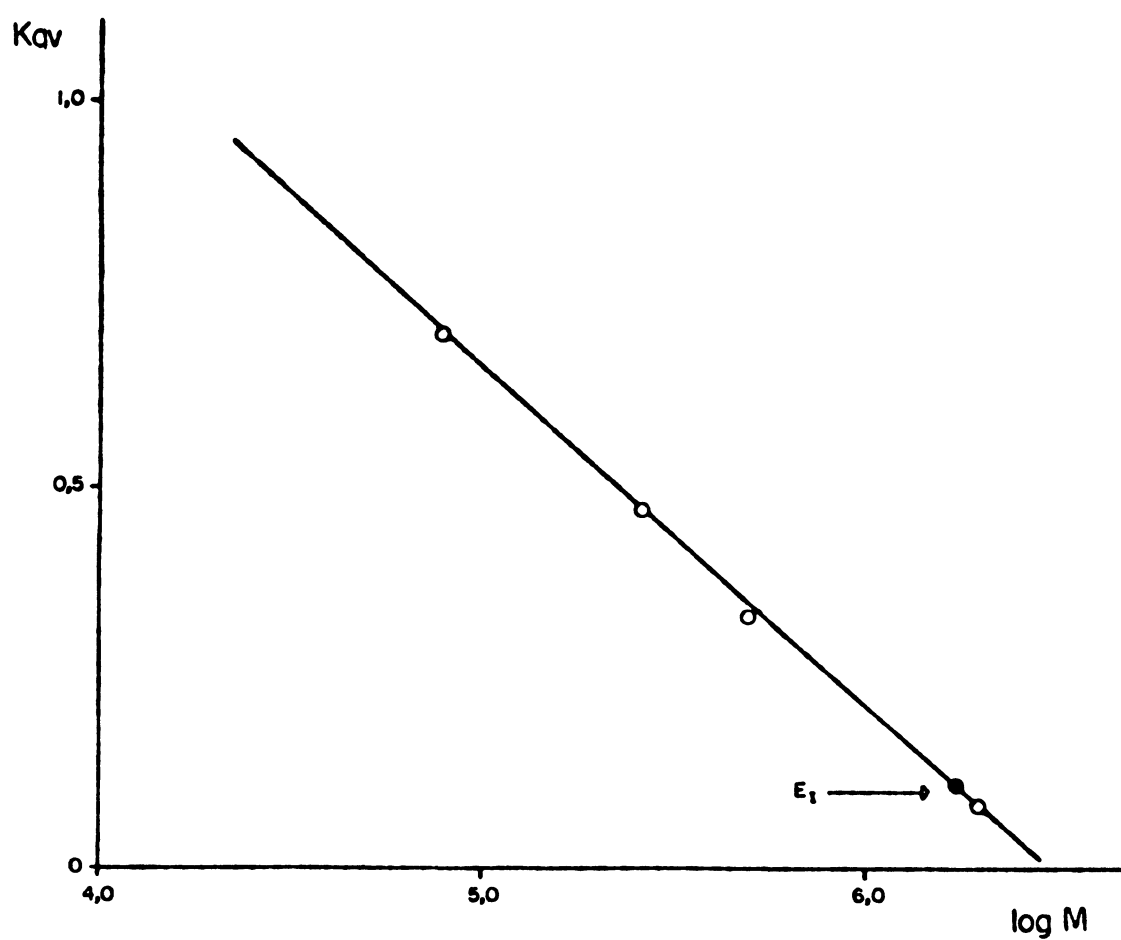


Figura 2 - Determinação da massa molecular da galactomanana E_1 de *Schizolobium amazonicum*

Para caracterização estrutural a galactomanana foi metilada sequencialmente pelos métodos de Haworth⁷⁹, por duas vezes e Ciucanu e Kerek³⁵, uma vez e a completa metilação do polissacarídeo foi confirmada pela ausência de banda de absorção na região de 3400 cm⁻¹, característica do grupo hidroxílico. O polissacarídeo permetilado foi hidrolisado e os produtos analisados por g.l.c. e g.l.c.-m.s. na forma de acetatos de alditóis parcialmente metilados (Tabela VII).

Os dados de metilação mostram uma estrutura convencional para a galactomanana de *Schizolobium amazonicum*. Uma cadeia principal de manose ligada (1→4) indicada pela presença do derivado 2,3,6-Me₃-Man tendo ramificações laterais de galactose unidas por ligações (1→6), indicada pela presença dos derivados 2,3-Me₂-Man e 2,3,4,6-Me₄-Gal. A proporção de 48,5% para o derivado 2,3,6-Me₃-Man indica que neste polissacarídeo, a maioria das unidades de manose não é substituída. A relação manose: galactose obtida por esta análise foi de 3,1:1, em concordância como o valor obtido por H.P.L.C. para o polissacarídeo original hidrolisado.

Tabela VII - Análise por metilação da galactomanana de *Schizolobium amazonicum* (fração E₁) através dos acetatos de alditóis parcialmente metilados.

Componente	R _i Rcl ^a	mol %		M.S. (m/z) ^b
		g.l.c.	g.l.c. - m.s.	
2,3,4,6 - Me ₄ -Gal	1,20	24,2	24,2	55, 71, 75, 85, 87, 101, 117, 129, 145, 161, 205
2,3,6 - Me ₃ -Man	2,20	48,5	48,5	52, 71, 87, 99, 101, 113, 117, 129, 131, 143, 161, 173, 233.
2,3 - Me ₂ -Man	4,80	27,3	27,3	59, 71, 85, 87, 101, 117, 127, 129, 141, 201, 261

a - g.l.c. em coluna ECNSS com tempo de retenção relativo ao 1,5-di-O-acetil-2,3,4,6- tetra-O-metil-D-glucitol.

b - g.l.c. - m.s. em coluna capilar de OV-225.

Após a oxidação da galactomanana com metaperiodato de sódio por um período de 7 dia, obteve-se como produtos da oxidação seguida de redução com NaBH₄ e hidrólise ácida, glicerol eritritol e manose. A manose é resultante da oxidação incompleta do polissacarídeo, e é um fato comum entre as galactomananas. A resistência das unidades de manose a oxidação com o metaperiodato de sódio já foi observada para galactomananas de várias espécies como guar, *Senna multijuga*, *Stryphnodendron*

barbatiman, *Gleditsia amorphoides*, *Gleditsia triacanthas*, *Trigonella*, *foenum-graecum*, *Medicago sativa*, *Cassia nodosa* e *Cassia alata*^{29,75,86,102,103,135,147} Esse comportamento é atribuído à formação de hemiacetais, que se originam da ligação entre um grupo aldeído resultante da oxidação na unidade de manose e a hidroxila livre em C-6 da mesma unidade. Quando a unidade de manose estiver substituída em C-6 por galactose, existe a possibilidade de formação de hemiacetal com uma hidroxila livre da unidade de manose adjacente⁸⁶.

Uma aliquota do poliálcool resultante da oxidação com o metaperiodato de sódio e redução com NaBH_4 foi submetida a um novo ciclo de oxidação, por mais 7 dias. Após o segundo ciclo de oxidação os únicos produtos obtidos foram glicerol e eritritol. Estes resultados concordam com os tipos de ligações indicados pela análise de metilação. O glicerol é proveniente das unidades de galactose ligadas (1→6) e o eritritol é proveniente das unidades de manose (1→4) ligadas.

A observação de que uma aldopiranosose completamente acetilada ligada equatorialmente a outras na forma β são oxidadas por trióxido de cromo em ácido acético, enquanto que os anômeros α são muito lentamente oxidados, tem sido utilizada para determinar a natureza anomérica das unidades em galactomananas^{15,75,81,102,135,155}.

A galactomanana de *Schizolobium amazonicum*, completamente acetilada, foi oxidada com trióxido de cromo em presença de xilitol pentaacetato, como padrão interno. Foram retiradas aliquotas nos tempos 0, 1, 2 e 3 horas. As aliquotas foram hidrolisadas, reduzidas, acetiladas e analisadas por g.l.c. (Tabela VIII). Verificou-se que após 3h de reação com o trióxido de cromo, 73,5% das unidades de manose e apenas 6,7% das unidades de galactose foram oxidadas. Estes resultados confirmam a anomeridade característica das galactomananas, na forma β para a manose e α para a galactose.

Tabela VIII - Composição molar de monossacarídeos em relação ao padrão interno de xilitol, durante a oxidação com trióxido de cromo da galactomanana de *Schizolobium amazonicum*.

Composição monossacarídica*	Tempo (horas)			
	0	1	2	3
Manose	3,4	2,4	1,9	0,9
Galactose	1,5	1,5	1,4	1,4

* determinada por g.l.c. na forma de acetatos de alditóis.

Uma solução da galactomanana de *Schizolobium amazonicum* (fração E₁) após 3h de sonicação foi analisada por espectroscopia de ¹³C-n.m.r. apresentando sinais bem definidos (Figura 3). Sem tal degradação o espectro apresentou uma resolução baixa

As ressonâncias das unidades de manose são mais largas do que aquelas das unidades de galactose. Isto pode refletir uma maior mobilidade de reorientação destas últimas, embora a heterogeneidade na sequência dos deslocamentos também possa contribuir na largura das ressonâncias dos carbonos da manose ⁷¹.

As áreas relativa dos sinais de C-1 da galactose e manose (substituída e não substituída) forneceram uma relação manose: galactose de 3,0.1, de acordo com os resultados obtidos por HPLC e metilação.

No espectro da galactomanana três tipos de unidades podem ser diferenciadas e identificadas: α-D-galactopiranosose (extremidades não redutoras), β-D-manopiranosose não substituída e β-D-manopiranosose substituídas em O-6 (Tabela IX).

Na região do carbono anomérico, os dois sinais bem resolvidos, a δ103,26 e δ103,42, correspondem as unidades de manose substituída e não substituída, respectivamente. O outro sinal, a 102,16 é proveniente das unidades de galactose. Estes sinais correspondem a estruturas piranosídicas e configurações α para a galactose β para a manose confirmando os resultado da oxidação com o trióxido de cromo^{66,71,72}.

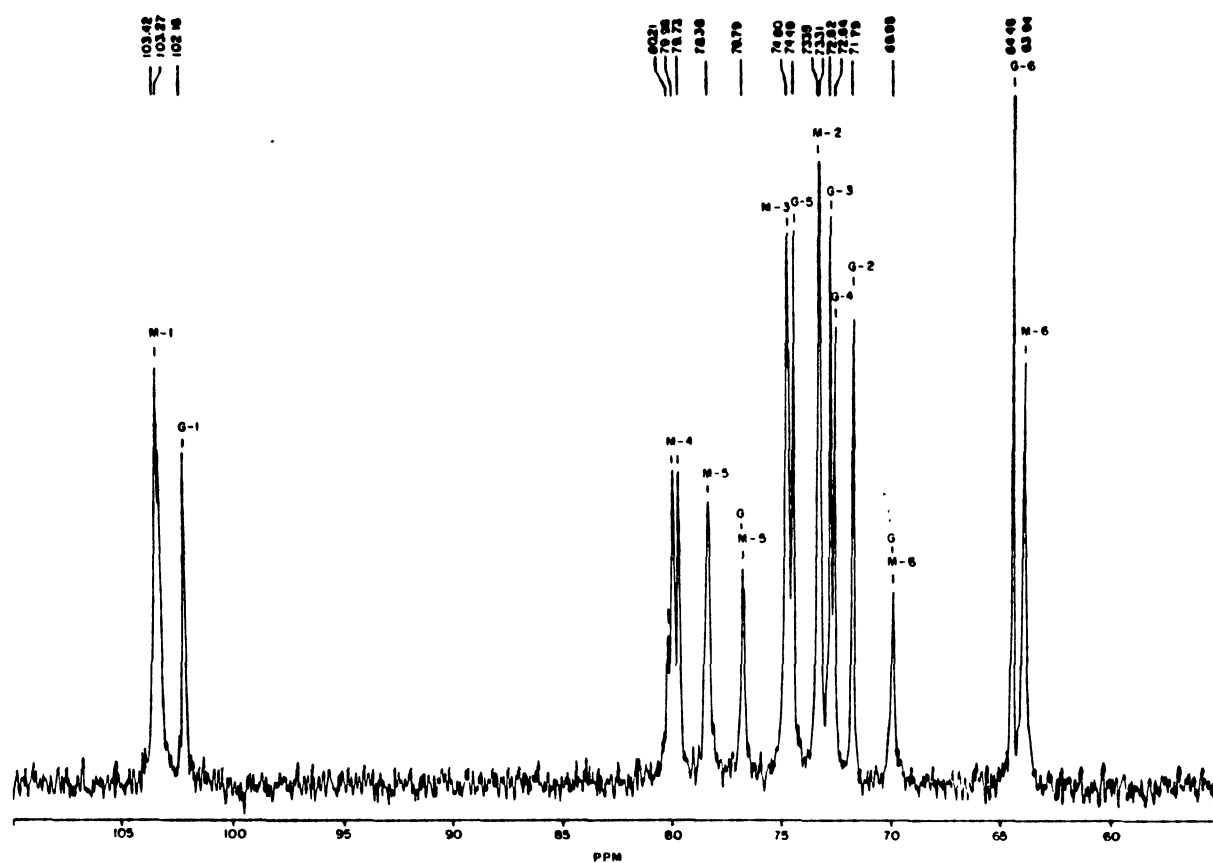


Figura 3 - Espectro de ^{13}C -n.m.r. da galactomanana de *Schizolobium amazonicum* em óxido de deutério (D_2O), a 85°C e 75 MHz.

M = β -D-manopiranos; G = α -D-galactopiranos.

Tabela IX - Atribuição dos sinais do espectro de ^{13}C -n.m.r. da galactomanana das sementes de *Schizolobium amazonicum*.

Tipo de unidade	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
α -D-galactopirranose	102,16	71,79	72,82	72,64	74,49	64,46
β -D-manopirranose não substituída em O-6	103,42	73,35	74,80	79,73 79,98 ^b	78,38	63,94
β -D-manopirranose substituída em O-6	103,27	73,31	74,72	79,98 ^a 80,21	76,79	69,95

Sinais em p.p.m. relativos ao DSS.

a- quando a manose precedente não está substituída.

b- quando a manose precedente está substituída.

Considerando a estrutura da galactomanana, obtida pelos dados de metilação e periodato, é possível determinar a relação manose:galactose também pela quantificação dos sinais relativos a manose substituída e não substituída. O valor obtido através deste cálculo 3,0:1, confirma os resultados anteriores.

Dois sinais foram observados para C-2 e C-3 das unidades de manose. Nos dois casos, os sinais em campo mais baixo foram atribuída às unidades β -D-manopirranose não substituídas, enquanto que o sinais em campo mais alto foram correlacionados com as unidades β -D-manopirranose substituídas em O-6^{19,109}.

A ressonância de C-4 das unidades de manose $\beta(1\rightarrow4)$ ligadas é sensível a presença ou não de substituintes na unidade adjacente ligada a O-4, isto é, a unidade precedente na cadeia. Nesta região, nos espectros de galactomananas podem ser diferenciadas três sinais que identificam três díades (manoses consecutivas) diferentes. O sinal em campo mais alto refere-se ao par onde as duas unidades de manose não estão substituídas $(-\text{M}-\text{M}-)$, enquanto que, o sinal em campo mais baixo é atribuído a duas unidades contíguas substituídas $(-\text{M}-\text{M}-)$. O deslocamento intermediário representa a superposição de sinais originários de díades onde apenas uma das unidades é substituída $(-\text{M}-\text{M}- \text{ ou } -\text{M}-\text{M}-)$ ^{71,94,109,160}

Para a galactomanana *Schizolobium amazonicum* o sinal de $\delta 79,73$, em campo alto representa

a diade não substituída, o sinal de 79,98 corresponde a diade com uma das unidades de manose substituída e o sinal de 80,21 é relativo a diade totalmente substituída (Figura 4).

A relação manose: galactose de 3,0:1 obtida por HPLC, metilação e pela quantificação das áreas relativa dos sinais dos carbonos anoméricos da manose e galactose sugere que a maior frequência de díades neste polímero seja a da não substituída. Entretanto, a maior área relativa corresponde ao pico intermediário, que se deve a diade onde apenas uma das unidades de manose é substituída. Isto se deve, provavelmente, a soma das duas possibilidades que esta diade admite: $\begin{array}{c} \text{G} \\ | \\ -\text{M}-\text{M}- \end{array}$ e $\begin{array}{c} \text{G} \\ | \\ -\text{M}-\text{M}- \end{array}$. A presença de um sinal menos intenso, relativo a diade totalmente substituída, sugere uma distribuição ao acaso das unidades de galactose ao longo da cadeia de manose.

Shcherbukhin¹⁶⁰ obteve um espectro para a galactomanana de *Indigofera tinctoria* onde podem ser identificados os quatro picos correspondentes as díades de C-4 da manose. Neste caso os sinais das díades $\begin{array}{c} \text{G} \\ | \\ -\text{M}-\text{M}- \end{array}$ e $\begin{array}{c} \text{G} \\ | \\ -\text{M}-\text{M}- \end{array}$ não estão superpostos.

O pico de C-5 correspondente a manose não substituída mostra um sinal principal em 87,382 e dois outros pequenos sinais, pouco resolvidos, em campo mais alto e outro em campo mais baixo. A presença destes dois pequenos sinais nesta região já foi observada para a galactomanana de *Gleditsia triacanthos*¹⁰⁹, embora não tenham sido interpretados. As ressonâncias de C-5 não são bem resolvidas, impedindo uma determinação precisa da frequência de tríades.

Nas galactomananas, a ressonância de C-6 das unidades de manose mostra sensibilidade a vizinhança, ou seja, apresenta sinais diferentes conforme as unidades adjacentes estejam ou não substituídas. Para a manose substituída, três sinais de absorção podem ser observados: o sinal em campo mais baixo é atribuído a três unidades consecutivas substituídas $\begin{array}{c} \text{G} \text{ G} \text{ G} \\ | \quad | \quad | \\ (-\text{M}-\text{M}-\text{M}-) \end{array}$; o sinal em campo mais alto é oriundo da tríade (3 manoses consecutivas) em que somente a unidade do meio é substituída $\begin{array}{c} \text{G} \\ | \\ (-\text{M}-\text{M}-\text{M}-) \end{array}$ e o pico de absorção intermediário representa a superposição de sinais de duas tríades, onde duas unidades contíguas estão substituídas $\begin{array}{c} \text{G} \text{ G} \quad \text{G} \text{ G} \\ | \quad | \quad | \quad | \\ (-\text{M}-\text{M}-\text{M}- \text{ ou } -\text{M}-\text{M}-\text{M}-) \end{array}$ ¹⁰⁹.

No espectro da galactomanana de *Schizolobium amazonicum* esta região não se apresenta bem resolvida, mostrando um pico único em 86,95 ppm. Entretanto, em um segundo espectro da galactomanana, obtido nas mesmas condições que o primeiro, mas de menor resolução nas regiões de C-1 e C-4, estas

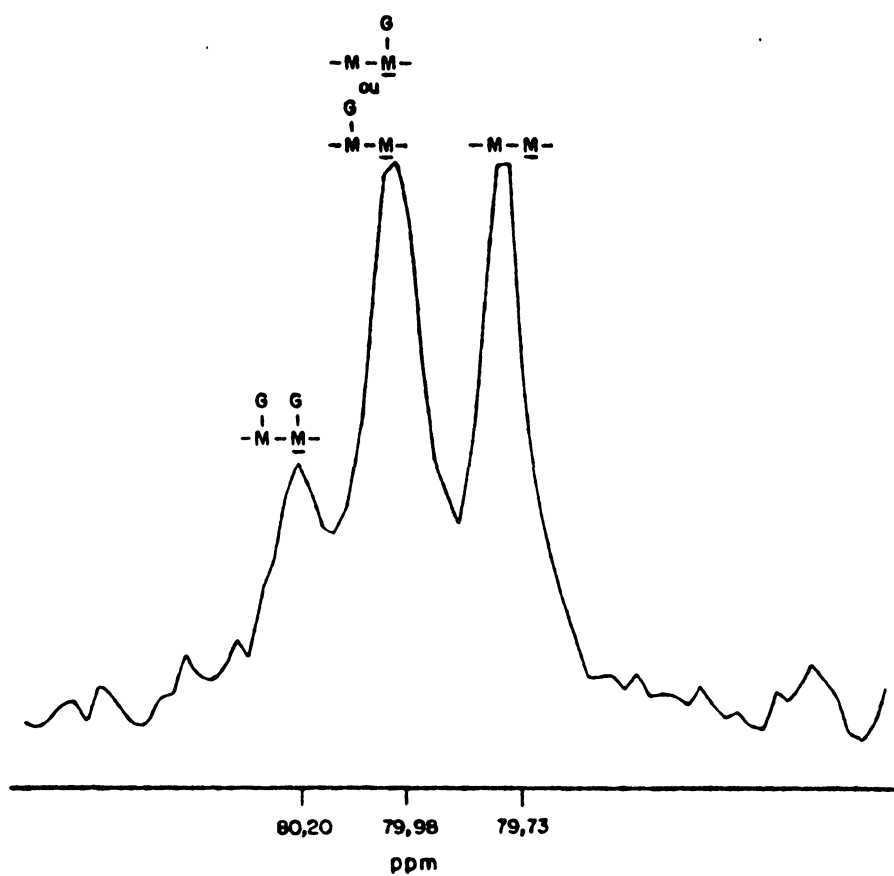


Figura 4 - Região do espectro de ^{13}C -n.m.r. da galactomanana E_1 de *Schizolobium amazonicum* correspondente a C-4 de manose.

M = β -D-manopiranoose; G= α -D-galactopiranoose. As unidades envolvidas estão sublinhadas.

triades podem ser diferenciadas (Figura 5). Os sinais em $\delta 69,00$, $\delta 68,79$ e $\delta 68,50$ correspondem a triade $\begin{array}{c} \text{G} \text{ G} \text{ G} \\ | \quad | \quad | \\ \text{M} \text{---} \text{M} \text{---} \text{M} \end{array}$, ao conjunto $(\begin{array}{c} \text{G} \text{ G} \\ | \quad | \\ \text{M} \text{---} \text{M} \text{---} \text{M} \end{array} \text{ e } \begin{array}{c} \text{G} \text{ G} \\ | \quad | \\ \text{M} \text{---} \text{M} \text{---} \text{M} \end{array})$ e a triade $\begin{array}{c} \text{G} \\ | \\ \text{M} \text{---} \text{M} \text{---} \text{M} \end{array}$, respectivamente. A presença destes três picos sugere uma distribuição ao acaso das unidades de galactose ao longo da cadeia da manana. O pico intermediário apresenta uma maior área relativa por ser a soma dos sinais de $\begin{array}{c} \text{G} \text{ G} \\ | \quad | \\ \text{M} \text{---} \text{M} \text{---} \text{M} \end{array}$ e $\begin{array}{c} \text{G} \text{ G} \\ | \quad | \\ \text{M} \text{---} \text{M} \text{---} \text{M} \end{array}$, já que devido a proporção manose: galactose do polímero supõem-se que o pico principal deva ser aquele correspondente a triade $\begin{array}{c} \text{G} \\ | \\ \text{M} \text{---} \text{M} \text{---} \text{M} \end{array}$.

Manzi et al.¹⁰⁹ admitem que o sinal de C-6 da manose não substituída pode representar a superposição de sinais provenientes de outras triades. Neste caso as possibilidades seriam: uma unidade de manose não substituída entre duas substituídas $\begin{array}{c} \text{G} \text{ G} \\ | \quad | \\ \text{M} \text{---} \text{M} \text{---} \text{M} \end{array}$; três unidades contíguas não substituídas $(\text{M} \text{---} \text{M} \text{---} \text{M})$ e a triade na qual apenas uma das unidades vizinhas é substituída $(\begin{array}{c} \text{G} \\ | \\ \text{M} \text{---} \text{M} \text{---} \text{M} \end{array} \text{ ou } \begin{array}{c} \text{G} \\ | \\ \text{M} \text{---} \text{M} \text{---} \text{M} \end{array})$. Para o *Schizolobium amazonicum* esta última deve ser a predominante, entretanto o alargamento observado próximo a base do pico, em $\delta 63,94$ para C-6 da manose não substituída pode indicar a presença das outras duas triades.

Os resultados obtidos para a galactomanana de *Schizolobium amazonicum*, (manose:galactose 3,0:1; $[\alpha]_D^{25} = +29,6^\circ$), mostram grande semelhança estrutural com a galactomanana de *Schizolobium parahybum*, (manose:galactose 3,0:1; $[\alpha]_D^{25} = +32,3^\circ$).⁶³

4.3 - Análise de metilação e degradação de Smith do resíduo M

O resíduo M das extrações aquosas e alcalinas do endosperma das sementes de *Schizolobium amazonicum* (Tabela I), pode ser considerado uma manana verdadeira, segundo a definição de Aspinall⁶ que considera mananas verdadeiras os polissacarídeos com 95% ou mais de unidades D-manose. O percentual de 97,9% de manose neste polissacarídeo iguala-se aos percentuais descritos para as mananas de "ivory nut", *Phoenix dactylifera* e *Carum carvi*.^{7,84}

A manana foi parcialmente metilada pelo método de Haworth⁷⁹, sendo o processo completado pelo procedimento de Ciucanu e Kerek³⁵. O polissacarídeo permetilado foi hidrolisado e os produtos analisados sob a forma de acetatos de alditóis parcialmente metilados (Tabela X). A presença do derivado 2,3,6-Me₃-Man (95%) indica uma cadeia linear de manose ligada (1→4). Somente 2% das unidades de manose estão substituídas na posição 6 por galactose, indicado pela presença de aproximadamente 2% de

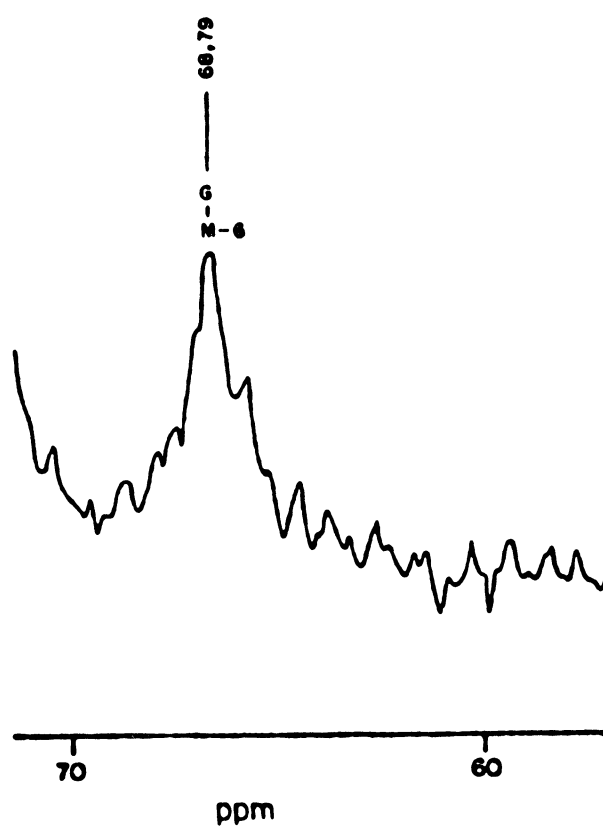


Figura 5 - Região de um espectro de ^{13}C -n.m.r. da galactomanana E₁ de *Schizolobium amazonicum* correspondente a C-6 de manose.

M = β -D-manopirano; G = α -D-galactopirano.

cada um dos derivados 2,3,4,6-Me₄-Gal e 2,3-Me₂-Man. O derivado 2,3,4,6-Me₄-Man (1,2%) é proveniente da extremidade não redutora da molécula.

Tabela X - Análise por metilação da manana* do endosperma das sementes de *Schizolobium amazonicum* na forma de acetatos de alditóis parcialmente metilados.

Componente	R _t Rel. ^a	Mol% ^a	M.S.(m/z) ^b
2,3,4,6 - Me ₄ - Man	1,10	1,2	59,71,75,87,101,113,117,129,145,161,205
2,3,4,6 - Me ₄ - Gal	1,33	1,7	59,71,75,87,101,113,117,129,145,161,205
2,3,6 - Me ₃ - Man	2,20	94,9	60,71,85,87,99,101,113,117,129,131,139,151,171,173,189,233.
2,3 - Me ₂ - Man	4,90	2,2	58,59,71,85,87,101,117,127,129,139,161,187,201,231,261.

a- g.l.c. em coluna ECNSS com tempo de retenção relativo ao 1,5-di-O-acetil -2,3,4,6-tetra O-metil -D-glucitol.

b- g.l.c.-m.s. em coluna capilar de OV-225.

* resíduo das extrações aquosas e alcalinas sequenciais do endosperma.

A oxidação completa da manana com metaperiodato de sódio, requereu dois ciclos de reações, de forma semelhante a galactomanana(E₁), provavelmente também devido a formação de hemiacetais. Os resultados da degradação de Smith foram consistentes com os dados de metilação, mostrando a presença de eritritol como único produto.

Os produtos da metilação da manana do endosperma das sementes de *Schizolobium amazonicum* foram os mesmos obtidas para as mananas A e B de "ivory nut", com exceção da presença do derivado 2,3,4-Me₃-Man que indica a ocorrência de ligações (1→6) nestas últimas, mas que não foi confirmada pelos autores pela análise de oligossacarídeos^{7,8}.

A estrutura da manana de *Schizolobium amazonicum* assemelha-se às mananas do endosperma de sementes de palmáceas, como as de *Erythea edulis* e *Phytelephas macrocarpa*^{7,149}.

4.4- Análise da arabinana do tegumento das sementes de *Schizolobium amazonicum*.

A arabinana(SA₁) apresentou uma rotação ótica específica, $[\alpha]_D^{25}$ (NaOH 0,5N) de -130°, um valor semelhante ao obtido para a arabinana do tegumento das sementes de *Schizolobium parahybum* (-133°), para as arabinanas ramificadas, das raízes de *Althaea officinalis* (-147°), e da casca de galhos de *Salix alba* (141°) e igual ao obtido para a arabinana ramificada II dos cotilédones de *Cajanus cajan*(-130°).^{27,95,171,191}.

Este polissacarídeo foi metilado pelo método de Ciucanu e Kerck³⁵, hidrolisado e os produtos analisados por g.l.c. e g.l.c.-m.s. na forma de acetatos de alditóis parcialmente metilados. (Tabela XI). Os produtos de metilação permitem concluir que se trata de uma cadeia linear de unidades arabinofuranosídicas ligadas (1→5).

Este resultado foi confirmado pela oxidação do polissacarídeo com periodato de sódio, onde o único produto formado foi o glicerol.

Tabela XI - Análise por metilação da arabinana do tegumento das sementes de *Schizolobium amazonicum* na forma de acetatos de alditóis parcialmente metilados.

Componente	R _t Rel. ^a	mol% ^a	M.S. (m/z) ^b
2,3,5 - Me ₃ - Ara	0,40*	1,0	53,58,59,71,74,87,101,117,118,129,130,145,159,161.
2,3 - Me ₂ - Ara	1,17	99,0	71,87,99,101,117,129,130,131,159,161,179.

a- g.l.c. em coluna ECNSS com tempo de retenção relativo ao 1,5 di-O-acetil -2,3,4,6-tetra-o-metil-D-glucitol.

b- g.l.c. - m.s. em coluna capilar de OV-225.

* Utilizando-se a arabinana de *Schizolobium parahybum* como padrão¹⁹¹.

A arabinana foi analisada por espectroscopia de ¹³C-n.m.r. apresentando quatro sinais, indicando uma estrutura homopolissacarídica (Figura 6).

Na região do carbono anomérico, o sinal em δ110,18 corresponde ao anômero α-L. Para o anômero β o sinal seria em campo mais alto, em torno de δ102,2 ^{34,92}. A anomericidade das unidades

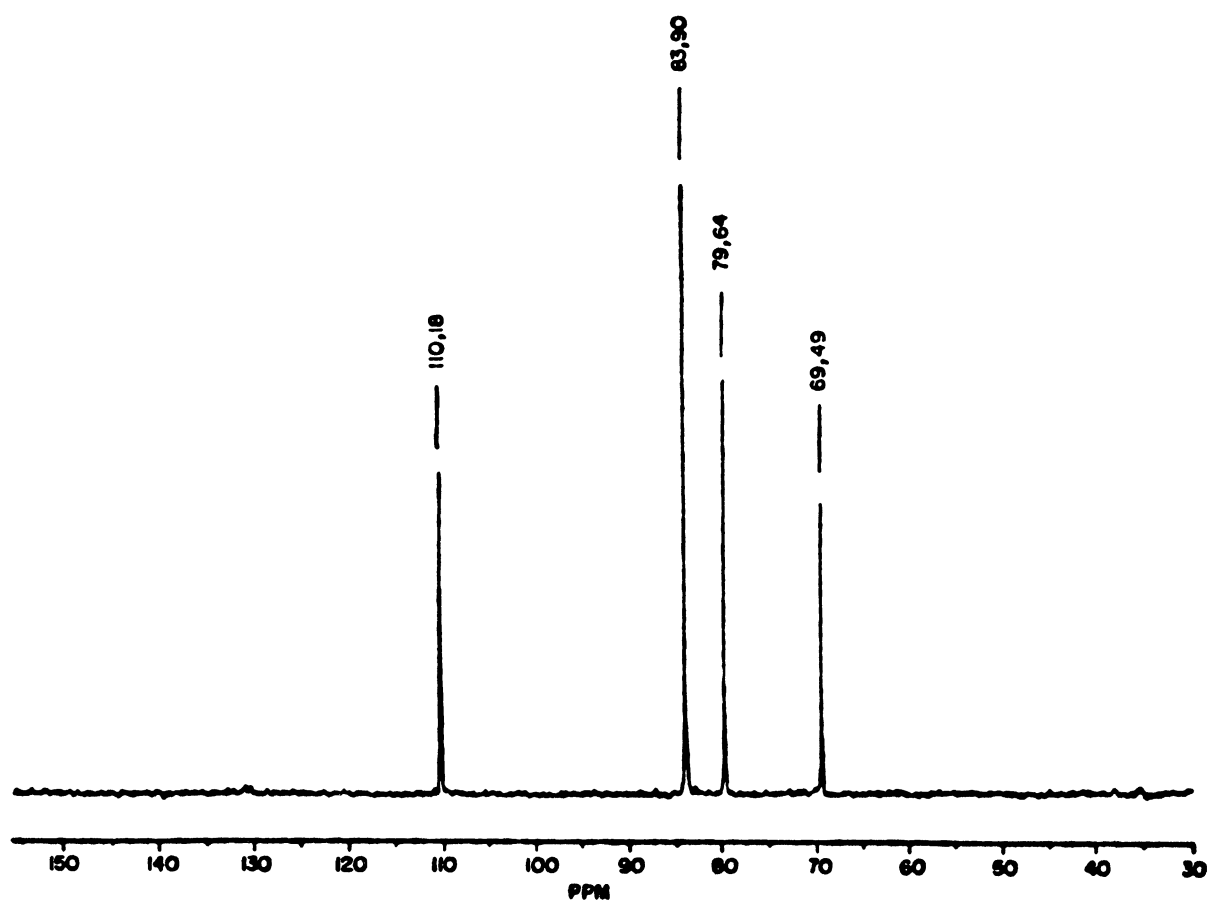


Figura 6- Espectro de ^{13}C -n.m.r. da arabinana do tegumento das sementes de *Schizolobium amazonicum* em NaOD 0,6N, a 40°C e 75MHz.

de arabinose também é confirmada pelo alto valor negativo da rotação ótica específica, indicando que as unidades no polímero são do tipo α -L-furanosídicas. A ausência de unidades α -L-piranosídicas foi confirmada pela falta de sinal a $\delta 105$, onde seria esperada a ressonância de C-1 para uma unidade deste tipo.^{66,91,171}

Os sinais relativos a C-4 e C-2 estão superpostos e um único pico é observado a $\delta 83,90$. Quando comparado com o sinal de um metil α -L-arabino-furanosídeo, o sinal de C-4 sofre um deslocamento β para campo mais alto, devido a ligação em C-5.¹⁹¹ A ressonância de C-3 é observada em $\delta 79,64$. Este sinal, assim como os outros estão de acordo com os sinais esperados para uma cadeia linear de unidade α -L-arabinofuranosídicas (1 \rightarrow 5) ligadas^{27,34,92,171,191}.

A arabinana do tegumento das sementes de *Schizolobium amazonicum* apresenta a mesma estrutura da arabinana isolada do tegumento das sementes de *Schizolobium parahybum*¹⁹¹. A estrutura destas arabinanas não é usual, uma vez que a grande maioria destes polissacarídeos é altamente ramificada¹⁶⁸. Além das arabinanas das espécies *Schizolobium*, a única referência a uma arabinana linear foi feita para um polissacarídeo isolado de um suco de maçã comercial. Entretanto, neste caso, o polímero linear provavelmente seja um produto da ação enzimática durante a etapa de tratamento para depolimerização da pectina, envolvida no processo industrial^{34,130}.

4.5- Análise das arabinanas do tegumento das sementes de *Cassia fastuosa* (frações C_{II} e CA_{II}).

Do tegumento das sementes de *Cassia fastuosa* foram isoladas duas arabinanas, C_{II} e CA_{II}, extraídas com água a 80°C e NaOH 4N respectivamente (Tabela VI). Elas foram metiladas pelo método de Ciucanu e Kerek³⁵, e após hidrólise os produtos foram analisados como acetatos de alditóis parcialmente metilados (Tabela XII). Para a arabinana C_{II}, o principal derivado foi o 2,3-Me₂-Ara (84,1%), o que indica a ocorrência de uma cadeia de unidades arabinofuranosídicas ligadas (1 \rightarrow 5). A presença de 8,0% do derivado 2,3,5-Me₃-Ara sugere a presença de cadeias laterais de arabinose. Os derivados 3-Me-Ara, 2-Me-Ara e Ara mostram que as cadeias laterais de arabinose estão ligadas em O-2 e/ou O-3 da cadeia principal, como ocorre na maioria das arabinanas estudadas^{7,27,91,92,95,121,181}. Para a arabinana CA_{II} a presença de 96,0% do derivado 2,3-Me₂-Ara sugere uma cadeia linear de unidades arabinofuranosídicas unidas por ligações do tipo 1 \rightarrow 5.

Tabela XII - Análise por metilação das arabinanas C_{II} e CA_{II} do tegumento das sementes de *Cassia fastuosa* na forma de acetatos de alditóis parcialmente metilados.

Arabinana	Componentes	Mol%
C _{II}	2,3,5-Me ₃ -Ara	8,0
	2,3-Me ₂ -Ara	84,1
	3-Me-Ara	3,0
	2-Me-Ara	4,2
	Ara	0,7
CA _{II}	2,3,5-Me ₃ -Ara	4,0
	2,3-Me ₂ -Ara	96,0

O espectro de ¹³C-n.m.r. da arabinana C_{II} do tegumento das sementes de *Cassia fastuosa* (Figura 7) mostra vários pequenos sinais na região de C-1, além do sinal proeminente em δ 111,2, indicativo da estrutura ramificada deste polissacarídeo. A presença de um pequeno sinal a 104,0 ppm, pode sugerir que algumas unidades de arabinose talvez estejam na forma piranosídica^{66,91,171}. O sinal em δ 109,5 pode ser atribuído as unidades substituídas em O-3.^{27,91,92} O sinal em δ 112,0 ppm pode ser relativo as extremidades não redutoras do polímero^{27,171} e aquele de C-1 das unidades α-L-arabinofuranosídicas (1→5) ligadas substituídas em O-2 pode corresponder ao sinal em δ 108,5.¹⁷¹

Na região de C-5, a intensidade do sinal em δ 70,1 indica que provavelmente este deslocamento esteja relacionado com as unidades de arabinose não substituídas, enquanto que o sinal em δ 65,3 ppm pode estar relacionado às unidades substituídas em O-2 e O-3.^{27,171} O sinal em campo mais alto, em δ 63,9 pode ser atribuído as extremidades não redutoras. A ressonância em δ 69,8 pode estar relacionada com as unidades de arabinose substituídas em O-3.^{27,171} O sinal relativo as unidades substituídas em O-2 na α-L-arabinana pode ser aquele em δ 70,3¹⁷¹. O sinal em campo mais baixo a δ 72,1 poderia ser oriundo de extremidades redutoras na forma piranosídica.¹⁷¹

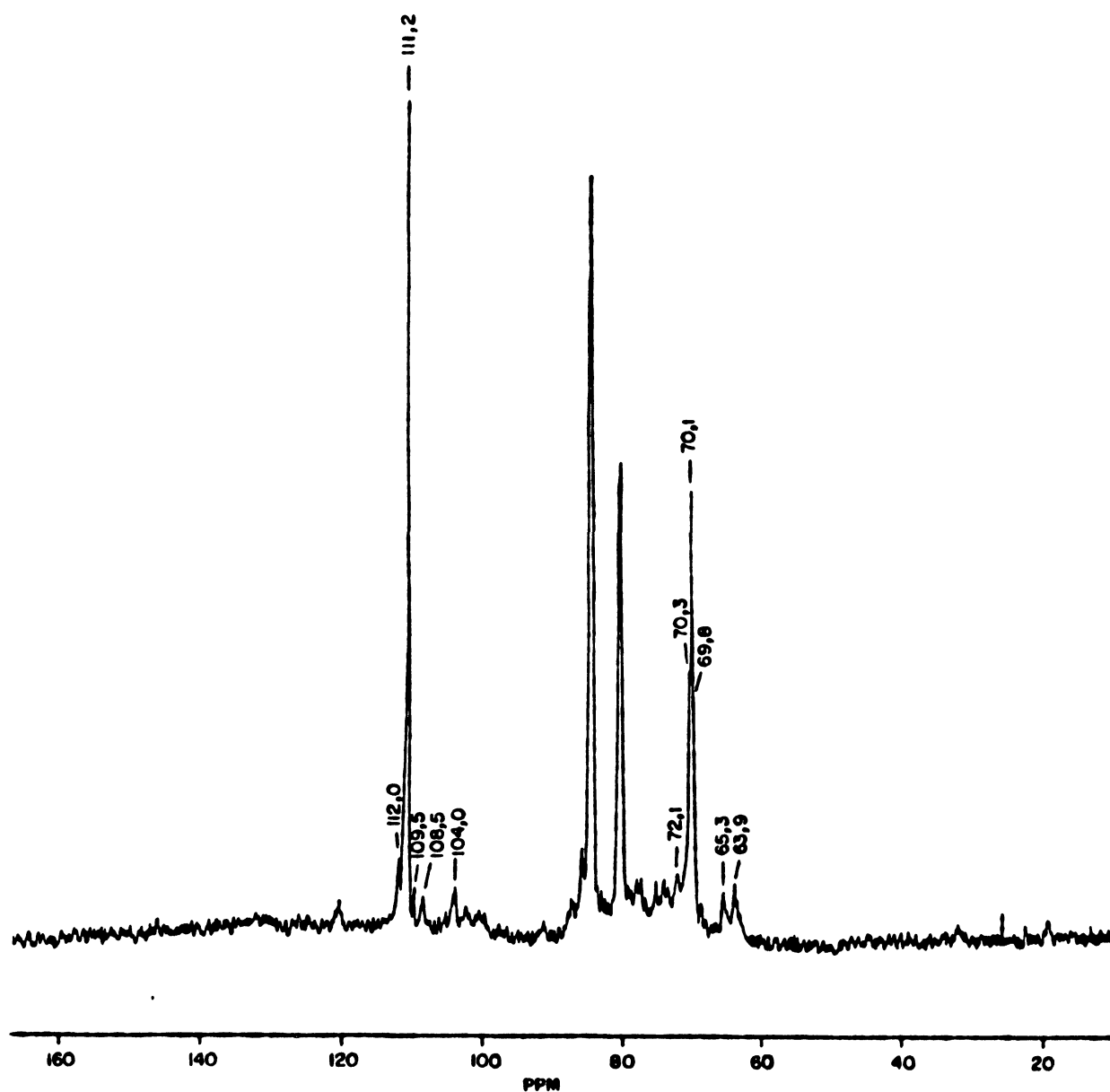


Figura 7 - Espectro de ^{13}C -n.m.r. da arabinana C_{II} do tegumento das sementes de *Cassia fastuosa* em NaOD 0,6N, a 40°C e 75MHz.

O espectro de ^{13}C -n.m.r. da arabinana CA_{II} (Figura 8) apresenta muito "ruído" e mostra cinco sinais principais com δ de: 110,03; 83,93; 83,70; 79,45 e 69,33. Estes deslocamentos correspondem respectivamente a C-1, C-4, C-2, C-3 e C-5 de uma α -L-arabinofuranana (1 \rightarrow 5) ligada, semelhante as arabinanas no tegumento das espécies *Schizolobium*, mostrando que a sua ocorrência não é restrita a estas espécies. A presença de ramificações, assim como a possibilidade da ocorrência de unidades na forma piranosídica na arabinana C_{II} da *Cassia fastuosa* diferindo da arabinana CA_{II} , provavelmente seja responsável pela maior facilidade na extração da primeira.

Swamy e Salimath¹⁷¹ isolaram dos cotilédones de *Cajanus cajan* duas arabinanas de estruturas semelhantes, onde uma delas apresentava somente unidades arabinofuranosídicas, enquanto que, na outra, ambas as formas da arabinose, furanose e piranose, estavam presentes.

Duas arabinanas ramificadas solúveis em água foram obtidas por Joseleau et al.⁹¹ por extração aquosa das raízes de *Vicia faba*.

Da casca interna do caule de *Rosa glauca* também foram isolados duas arabinanas ramificadas de estruturas similares, mas que diferiam no grau de polimerização⁹².

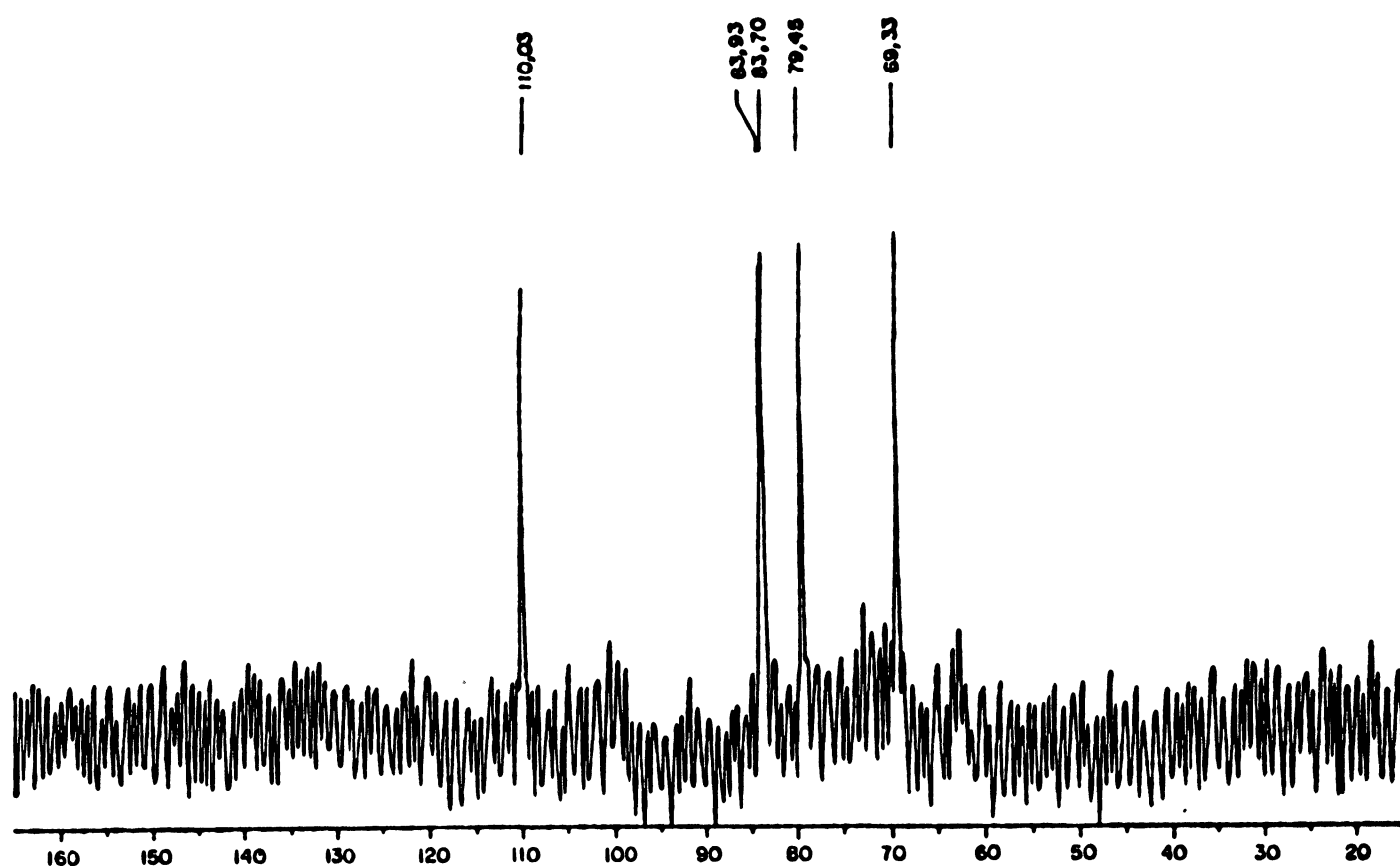


Figura 8 - Espectro de ^{13}C -n.m.r - da arabinana CA_{II} do tegumento das sementes de *Cassia fastuosa* em NaOD 0,6N, a 40°C e 75MHz.

4.6- Viscosidade da galactomanana E_I e capacidade de interação das galactomananas E_I e E_{IV}.

O grande interesse por galactomananas se deve, em muito, a sua capacidade de modificar as propriedades reológicas de soluções aquosas, formando soluções viscosas em baixas concentrações. As soluções de galactomananas, além da alta viscosidade em baixas concentrações apresentam a vantagem de serem muito pouco afetadas por variações de pH, adição de íons e ciclos de aquecimento e resfriamento⁴².

A viscosidade intrínseca da galactomanana (fração E_I) foi determinada para o polissacarídeo antes e após o tratamento de desproteinização por Sevag, sendo determinados os valores de 1000 ml/g e 980 ml/g, respectivamente (Figura 9). A viscosidade intrínseca praticamente não foi alterada pelo processo de desproteinização por Sevag, conforme já havia sido observado para outras galactomananas como as de *Senna multijuga*¹³⁵ e *Styphnodendron barbatiman*¹⁰². O valor de viscosidade intrínseca da galactomanana de *Schizolobium amazonicum* é próximo aos valores descritos para as galactomananas de guar (1030 ml/g) e alfarrobo (1330 ml/g), que são utilizadas comercialmente.

Considerando-se a equação de Huggins $\frac{\eta_{sp}}{C} = K' \ln^2 C + \ln$, a constante de Huggins, K', pode ser calculada a partir da inclinação da reta no gráfico $\eta_{red} \times C$. Os valores de k', em geral, variam de 0,3 a 0,7. Valores superiores a 0,7 indicam associação do polímero. Para a galactomanana de *Schizolobium amazonicum* o valor de k' obtido (k' = 1,0) sugere a existência de associação, provavelmente devido ao relativamente baixo grau de substituição neste polissacarídeo.

As galactomananas com baixos conteúdos de galactose (<30%) podem ser utilizadas na obtenção de géis de composição glicídica binária²³. Em níveis de concentração dos polissacarídeos inferiores aos requeridos para a geleificação em aumento sinérgico na viscosidade poder ser observado⁴⁶.

A interação entre gomas é considerada sinérgica quando resulta em um aumento da viscosidade da mistura, comparada a soma das viscosidades dos componentes individuais²³.

Uma interação do tipo sinérgico foi observada em misturas da galactomananas E_I com xantana KELTROL em diferentes proporções, em uma concentração total de polissacarídeo de 1g/l. (Figura 10). A formação de géis firmes não foi observada neste experimento, provavelmente devido a baixa concentração

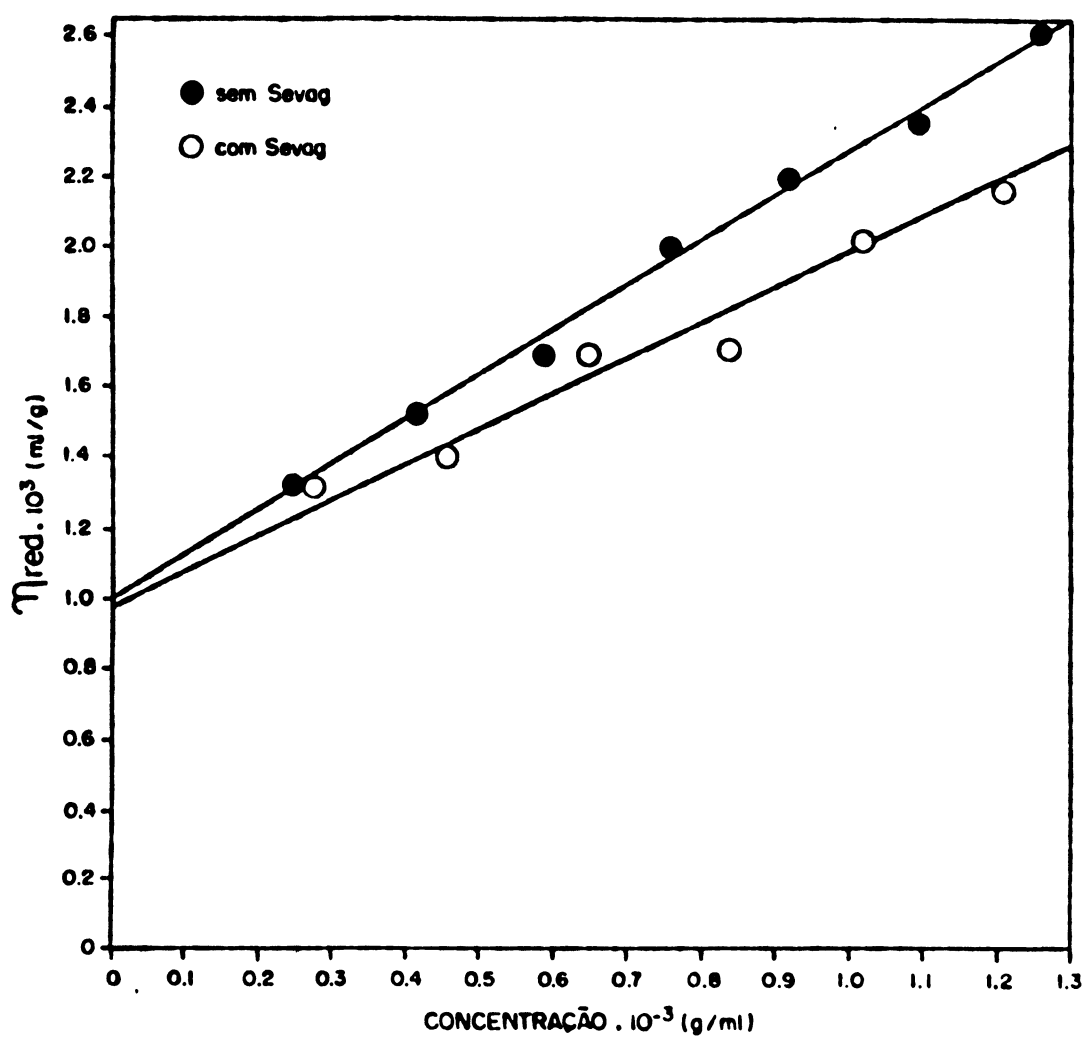


Figura 9 - Determinação da viscosidade intrínseca da galactomanana *Schizolobium amazonicum* (fração E₁), a 25°C, antes e após o tratamento de desproteínização por Sevag.

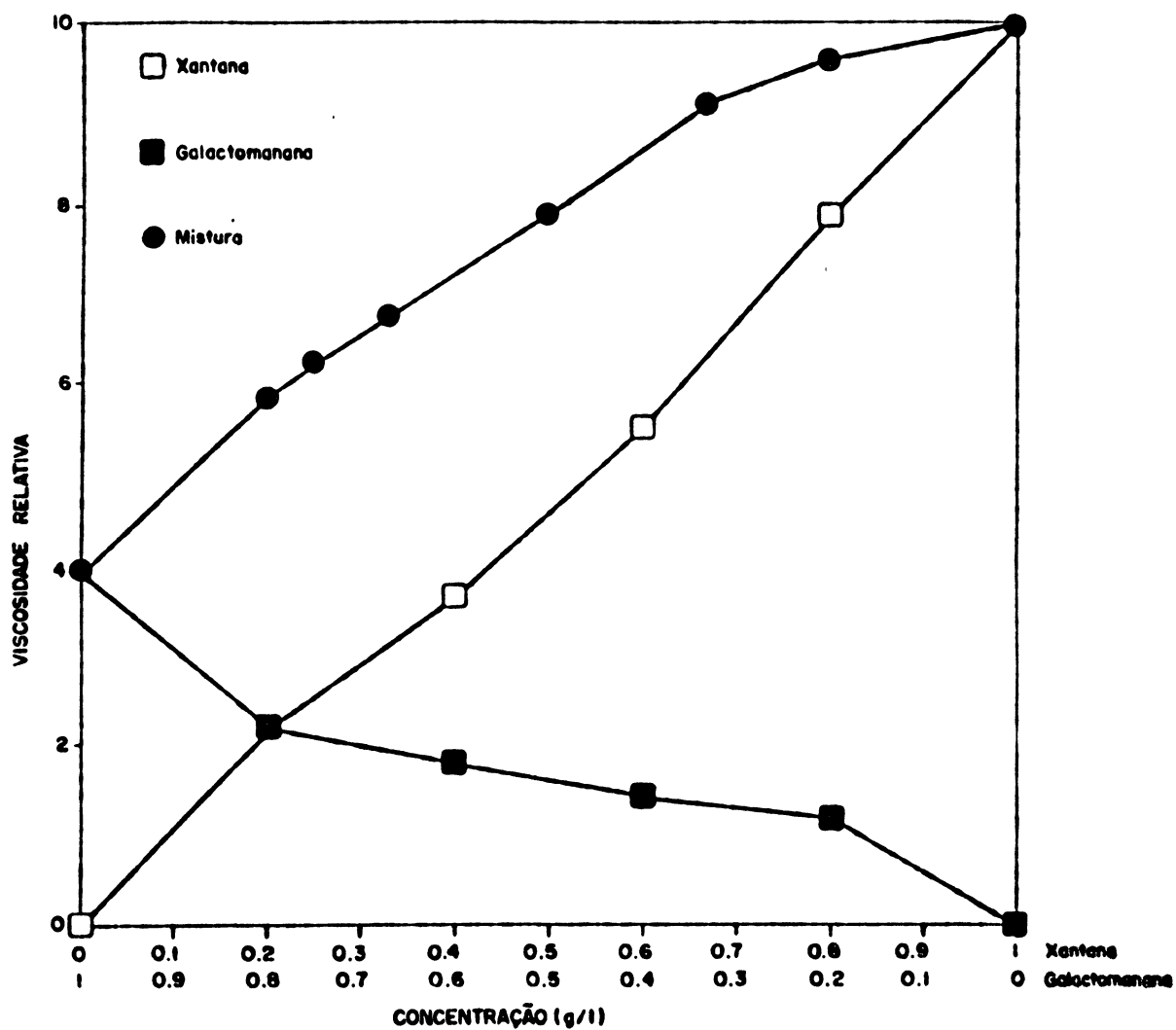


Figura 10 - Viscosidade relativa das soluções de galactomanana E_1 , de xantana e de suas misturas em concentrações total de 1g/l, em água destilada, a 25°C, medida em viscosímetro capilar 0,5 mm modelo Ubbelohde.

dos polímeros e a ausência do aquecimento da mistura para a desnaturação das hélices das moléculas de xantana, etapa necessária para a geleificação^{26,117,118}.

A interação sinérgica de misturas da galactomanana E_{IV} com xantana (KEILTROL) também foi observada.(Figura 11). Observa-se que na mesma concentração total de polissacarídeo (0,1 %), o efeito sinérgico para a mistura galactomanana E_{IV} (Tabela I) - xantana é muito maior do que para o sistema galactomanana E_I - xantana. Este comportamento pode ser atribuído ao menor grau de substituição na galactomanana E_{IV} do que E_I . Verifica-se também que o comportamento das duas misturas é diferente. Para o sistema galactomanana E_I -xantana a viscosidade relativa aumenta com o aumento da proporção de xantana na mistura, enquanto que para o sistema galactomanana E_{IV} xantana, a máxima interação é observada na proporção xantana - galactomanana de 1:2.

Tako e Nakamura¹⁷³ observaram que para misturas de xantana e galactomanana de alfarrobo em concentração total de 0,2%, a máxima sinergia ocorria na proporção xantana-galactomanana de 1:2.

Foram feitas misturas da galactomanana E_I com xantana nas mesmas proporções do experimento anterior, porém a uma concentração total de 10g/l e sendo aquecidas a 90°C. Após o resfriamento formaram-se géis firmes, que podiam ser cortados em fatias. Aparentemente, a mistura xantana-galactomanana E_I na proporção 1:4, formou o gel mais consistente.

Mannion et al.¹⁵⁸ sugerem que a xantana pode interagir com galactomananas por dois mecanismos distintos. O primeiro requerendo o aquecimento da mistura a uma temperatura maior que a temperatura de transição conformacional da xantana, enquanto que o segundo mecanismo ocorreria a temperatura ambiente. Para misturas de galactomanana de alfarrobo e xantana, em concentrações total dos polímeros de 1,2% e 2%, Williams et al.⁷² observaram que a máxima força de gel ocorria na proporção dos polissacarídeos de 1:1.

Foram feitas misturas de soluções de k-carragenana e solução da galactomanana E_I , em diferentes proporções, em concentração total de 0,1 e 1%. Nos dois casos géis firmes foram obtidos a temperatura ambiente.

A rigidez dos géis galactomanana E_I - k-carragenana, em concentração total de 1%, foi avaliada pela deformação do gel(Tabela XIII).

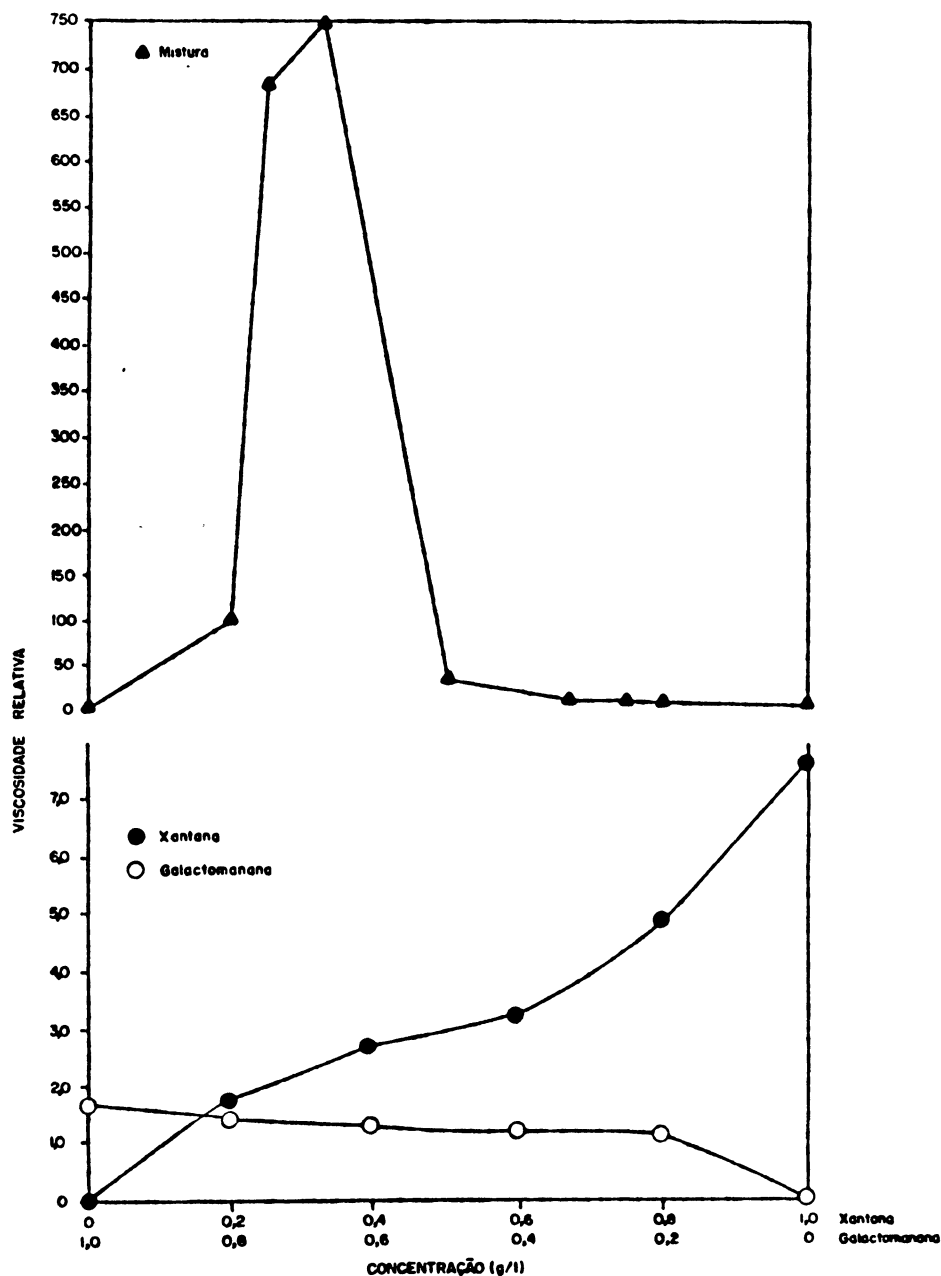


Figura 11 - Viscosidade relativa das soluções de galactomanana E_{1V} , de xantana e de suas misturas em concentração total de 1g/l, em água destilada, a 30°C, em viscosímetro capilar nº 300.

A mistura contendo carragenana-galactomanana mostrou praticamente a mesma rigidez que a k-carragenana sozinha. Este resultado é de grande importância industrial, pois a introdução de galactomananas em géis de k-carragenana pode reduzir o custo do produto final além de melhorar a qualidade dos géis, tornando-se menos quebradiços, mais elásticos e menos sujeitos a sinérese.^{23,25,26,42,43,118,178}

A estabilidade dos géis galactomanana E₁-karragenana foi observada deixando-os a 42°C, durante 18h, sem que nenhuma alteração aparente pudesse ser notada.

Tabela XIII - Medidas de penetrabilidade em géis mistos galactomanana E₁ - k carragenana e galactomananaE₁ - xantana, em concentração total de 1%.

k carragenana: galactomanana	Penetrabilidade(mm)
1:0	26,2
0:1	Não forma gel
4:1	20,8
3:1	17,6
2:1	20,0
1:1	27,3
1:2	24,9
1:3	27,2
1:4	28,9
Xantana : galactomanana	
1:0	Não forma gel
0:1	Não forma gel
1:4	31,2

O valor de rigidez obtido para o gel xantana-galactomanana em proporção de 4:1 (31,2 mm), tabela XIV, foi igual ao valor obtido para a gelatina comercial PRONTO da Gessy Lever (31,3 mm). Este resultado é bastante interessante, uma vez que nem a xantana, nem a galactomanana sozinhas formam géis.

5- CONCLUSÕES

1- O endosperma moído das sementes de *Schizolobium amazonicum* forneceu por extrações aquosas sequenciais a 25°C por duas vezes e a 80°C por três vezes uma série de galactomanans com valores manose:galactose crescentes.

2- A fração de maior rendimento, E_I (50,0% em relação endosperma), rotação ótica específica de + 29,6°, viscosidade intrínseca de 980 ml/g e 2,0% de proteína após desproteínização apresentou uma massa molecular de 1.700.000, determinada por gel filtração. O valor obtido por "light scattering" para uma solução filtrada em membrana de 0,2 mm foi de 710.000.

3- A análise de metilação indicou a presença de 48,5% de unidades de manose não substituídas e 27,3% de unidades de manose ramificadas em O-6 por galactose e a degradação de Smith resultou em glicerol e eritritol.

4. A oxidação com trióxido de cromo confirmou a anomericidade característica das galactomananas, na forma, β para a manose e α para a galactose.

5. O espectro acoplado de ¹³C-n.m.r. da galactomanana mostra os sinais de C-1 a δ 103,27 e δ 102,16, correspondentes a estruturas piranosídicas e configurações β e α para a manose e galactose, respectivamente. A análise das regiões de C-4 (díades) e C-6(tríades) no espectro de ¹³C-n.m.r. sugere uma distribuição ao acaso das unidades de galactose ao longo da cadeia principal.

6. As galactomananas E_I e E_{IV} interagem com xantana, a temperatura ambiente, em concentração total de 0,1%, mostrando comportamento sinérgico diferenciado. Em concentração total de 1% e aquecimento prévio da mistura géis firmes são obtidos. A fração E_I interage também com k-carragenana, em concentração total de 0,1 e 1% formando géis firmes.

7. O resíduo das extrações aquosas e alcalinas do endosperma moído das sementes de *Schizolobium amazonicum* foi caracterizado por metilação e degradação de Smith como uma manana verdadeira, consistindo de

uma cadeia linear de manose (1→4) ligada

8- O tegumento moído das sementes de *Schizolobium amazonicum*, pré-tratadas com benzeno-etanol (2:1 v/v, em Soxhlet) forneceu por extração alcalina uma arabinana (SA_I). A análise de metilação, oxidação com periodato e ¹³C-n.m.r. mostrou tratar-se de uma (1→5) α-L-arabinofuranana linear, com rotação ótica específica de -130°.

9- O tegumento moído das sementes de *Cassia fastuosa*, pré tratado com benzeno-etanol (2:1 v/v, em Soxhlet) forneceu duas arabinanas com estruturas predominantemente lineares, C_I e CA_{II}, por extração com água a 80°C e NaOH 4N, respectivamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADAMS, G.A. Complete acid hydrolysis. Methods Carbohydr. Chem., New York, V. 5, p. 269-276, 1965.

2. AISEMBERG, E. ; SMOLKO, E. The crystalline structure of *Gleditsia amorphoides* galactomannan. Anales Assoc. Quím. Argentina, Buenos Aires V. 62, p. 113-120, 1974.

3. AKAZAWA, T. Starch, inulin and other reserve polysaccharides. In: BONNER, J.; VARNER, J.E. Plant Biochemistry. New York : Academic Press, 1965. p. 258-293

4. ALBERSHEIM, P. Biogenesis of the cell wall. In: BONNER, J.; VARNER, J. E. Plant Biochemistry. New York : Academic Press, 1965 p. 298-319.

5. ALRECHTSEN, E. Um exemplo prático de ensaios de espécies na Região Bragantina. Brasil Florestal, v. 21, p. 12-19, 1975.

6. ASPINALL, G.O. Structural Chemistry of the hemicelluloses. Adv. Carbohydr. Chem., New York, V. 14, p. 429-468, 1959.

7. ASPINALL, G.O. ; HIRST, E.L. ; PERCIVAL, E. G. V. ; WILLIAMSON, I.R. The mannans of ivory nut (*Phytelephas macrocarpa*). Part I The methylation of mannan A and mannan B. J. Chem. Soc. (Lond), London, p 3184 - 3188, 1953

8. ASPINALL, G.O. , RASHBROOK, R B. , KESSLER, G The mannans of ivory nut (*Phytelephas macrocarpa*) Part II The partial acid hydrolysis of mannans A and B J. Chem. Soc. (Lond), London, p. 215-221, 1958.

9. ASPINALL, G.O. ; WHYTE, J.N.C. Polysaccharides of soy-beans. Part I. Galactomannans from the hulls. J. Chem. Soc. (Lond), London, 5058-5063, 1964.

10. ASPINALL, G. O. Isolation and fractionation of polysaccharides In _____. The Polysaccharides New York : Academic Press, 1982. p. 19 - 26.

11. BAKER, C.W. ; WHISTLER , R.L. Distribution of D-galactosyl groups in guaran and locust-bean gum. Carbohydr. Res., Amsterdam, v. 45, p. 237-243, 1975.

12. BAUER, K.H. ; WOHLSCHEGEL , C. ; SARLIKOTIS, A. Galactomannan derivatives for encapsulation or incorporation of drugs. Eur. Pat. Appl. EP 481 - 240 (Cl. C 08B37/14), 22 Apr 1992, de Appl. 4.033.041, 18 Oct 1990.

13. BAVEJA, S.K. ; RAO, K.V.R. ; ARORA, J. ; MATHUR, N.K. ; VINAYAK , V.K. Chemical investigations of some galactomannan gums as matrix tablets for sustained drug delivery. Indian J. Chem., New Dehli V. 30B, p. 133-137, 1991.

14. BEWLEY, J.D.; BLACK, M. Seeds germination, structure, and composition In: Seeds : physiology of development and germination, New York. Plcming Press, 1986. p 1-27.

15. BHATTACHARYYA, S. ; DAS, A K , BANERJI, N, FAROOQI, M I H A water-soluble galactomannan from *Sesbania aegyptiaca* seeds. Phytochemistry (Oxf) , Oxford, V. 22,p. 161-164, 1983.

16. BIERMAN,C.J. Hydrolysis and other cleavage of glycosidic linkages. In: BIERMAN, C.J.;McGINNIS, G.D. Analysis of carbohidrates by G.L.C. and M.S. Florida: CRC Press, 1989. p. 27-41.

17. BJORNDAL, H. ; WAGSTRON, B. Polysaccharides elaborated by *Polyporus borealis* (Wahlenb). Acta Chem. Scand., Copenhagen, v. 23, p. 1560-1566, 1969.

18. BLUMENKRANTZ, N. ; ASBOE - HANSEN, G. New method for quantitativc dctermination of uronic acids. Anal. Biochem., Duluth, v. 54, p. 481-489, 1973.

19. BOCHER, S.M. ; IZZARD, M.J. ; MORRISON, A. ; WELTI, D. The ^{13}C -n.m.r. Spectra of (1 \rightarrow 6)- α -D-galactosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-mannans Carbohydr. Res., Amsterdam, v. 93, p. 279-283, 1981

20. BOUVENG, H.O. ; LINDBERG, B. Hydrolysis of methylated polysaccharides. Methods Carbohydr. chem., New York, V. 5, p. 287-298, 1960.

21. BRODE, G.L. ; STANLEY, J.P. ; PARTAIN, E. M. ; KREEGER, R.L. Glycol modified polysaccharides. In Yalpani, M. Industrial polysaccharides : genetic engineering, structure/property relations and application. Amsterdam: Elsevier Science, 1987, p. 129-138.

22. BUCKERIDGE, M.S. ; DIETRICH, S.M.C. Galactomannans from Brazilian legume seeds 1. Revta brasil bot., São Paulo, V. 13, p. 109-112, 1990.

23. BULPIN, P.V. ; GIDLEY, M.J. ; JEFFCOAT, R. ; UNDERWOOD, D.R. Development of a biotechnological process for the modification of galactomannan polymers with plant α -galactosidase. Carbohydr. Polym., Barking V. 12, p. 155-168, 1990.

24. CAIRNS, P. ; MILES, M.J. ; MORRIS, V. J. Intermolecular binding of xanthan gum and carob gum. Nature (Lond), London, v. 322, p. 89-90, 1986.

25. CAIRNS, P. ; ATKINS, E.D.T. ; MILES, M.J. ; MORRIS, V.J. Molecular transforms of kappa carrageenan and furcellaran from mixed gel systems. Int. J. Biol. Macromol., , V. 13, p. 65-68, 1991.

26. CAIRNS, P. ; MILES, M.J. ; MORRIS, V.J. ; BROWNSEY, G. X-ray fibre-diffraction studies of synergistic, binary polysaccharide gels. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 160, p. 411-423, 1987.

27. CAPEK, P. ; TOMAN, R. ; KARDOSOVA, A. ; ROSIK, J. Polysaccharides from the roots of the marsh mallow (*Althaea officinalis* L.). Structure of an arabinan. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 117, p. 133-140, 1983.

28. CARVALHO, P.E.R. Espécies florestais brasileiras; recomendações silviculturais, potencialidade e uso da madeira. Curitiba : EMBRAPA-CNPQ. Documentos, 22, 1992. 350p.
29. CEREZO, A.S. The constitution of a galactomannan from the seed of *Gleditsia amorphoides*. J. Org. Chem., Washington, V. 30, p. 924-927, 1965.
30. CHANZI, H. ; PÉREZ, S. ; MILLER, D.P. ; PARADOSSI, G. ; WINTER, W.T. An electron diffraction study of mannan. I Crystal and molecular structure. Macromolecules, v. 20, p. 2407-2413, 1987.
31. CHEETHAN, N.W.H. ; MASHIMBA, E.N.M. Conformational aspects of xanthan-galactomannan gelation. Carbohydr. Polym., Barking , V. 9, p. 195-212, 1988.
32. CHEETHAN, N.W.H. ; PUNRUCKVONG, A. Gel permeation and optical rotation studies on xanthan-galactomannan interactions. Carbohydr. Polym., Barking , v. 10, p. 129-141, 1989.
33. CHURMS, S.C. Gel chromatography of carbohydrates. Adv. Carbohydr. Chem., New York, v. 25, p. 31-51, 1970.
34. CHURMS, S.C. ; MERRIFIELD, E.H. ; STEPHEN, A.M. ; WALWYN, D.R. ; POLSON, A. ; VAN DER MERWE, K.J. ; SPIES, H.S.C. ; COSTA, N. An L-arabinan from apple-juice concentrates. Carbohydr. Res., Amsterdam, v. 113, p. 339-344, 1983.
35. CIUCANU, J. ; KEREK, F. A Simple and rapid method for the permethylation of carbohydrates. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 131, p. 209-217, 1984
36. CORRÊA, A.A. Essências papeleras de reflorestamento : 8 madeiras nativas da Amazônia. Acta Amazônica. Manaus, V. 15, p. 371-402, 1985.

37. CORRÊA, M.P. Dicionário de plantas úteis do Brasil. Rio de Janeiro : Imprensa Nacional, 1984.
38. COTTREL, I.W. ; KANG, K.S. ; KOVACS, P. Xanthan gum. In: DAVIDSON, R.L. Handbook of water - soluble gums and resins. New York : Mc Graw - Hill, 1980, p. 24.1 - 24.29.
39. CROCKER, W. ; BARTON Physiology of seeds. Waltham, Mass. ; The Chronica Botanica Company, 1957. p. 27-41.
40. CURTIS, E.J.C. ; CANTLON, J.E. Cell wall of Melampyrum lineare seed ; carbohydrate component. Science, Washington, V. 151, p. 580-581, 1966.
41. CUTTER, E.G. Anatomia Vegetal. Parte II. São Paulo : Roca, 1987 p. 253-280.
42. DEA, I.C.M. ; MORRISON, A. Chemistry and interactions of seed galactomannans. Adv. Carbohydr Chem. Biochem., San Diego, V. 31, p. 241 - 312, 1975.
43. DEA, I.C.M. ; CLARK, A.H. ; McCLEARY, B.V. Effect of galactose - substitution - patterns on the interaction properties of galactomannans. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 147, p. 275 - 294, 1986.
44. DEA, I.C.M. The role of structural modification in controlling polysaccharide functionality. In: YAL-PANI, M. Industrial polysaccharides : genetic engineering, structure/property relations and applications. Amsterdam : Elsevier Science, 1987, p. 207-216.
45. DEA, I.C.M. ; CLARK, A.H. ; McCLEARY, B.V. Effect on the molecular fine structure of galactomannans on their interaction properties - the role of unsubstituted sides. Food Hydrocolloids, Oxford , V. 1 (2), p. 129-140, 1986.
46. DEA, I.C.M. ; MORRIS, E.R. ; REES, D.A. ; WELSH, E.J. Associations of like and unlike polysaccharides : mechanism and specificity in galactomannans, interacting bacterial polysaccharides, and related systems. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 57, p. 249 - 272, 1977.

47. DEA, I.C.M. ; McKINNON, A A , REES , D.A. Tertiary and quaternary structure in aqueous polysaccharide systems with model cell wall cohesion : reversible changes in conformation and association of agarose , carrageenan and galactomannans. J. Mol. Biol., London, V. 68, p. 153-172, 1972.
48. DEY, P.M. Biochemistry of plant galactomannans. Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., San Diego, V. 35, p. 341-376, 1978.
49. DOUBLIER, J.L. ; LAUNAY, B. Rheology of galactomannan solutions : comparative study of guar gum and locust bean gum . J. Text. Stud., Trumbull , V.12, p. 151-172, 1981.
50. DOWNS, F. ; PIGMAN, W. Determination of O-acetyl groups by the Hestrin method. Methods Carbohydr. Chem., New York, V. 7, p. 241-243, 1976.
51. DUBOIS, M. ; GILLES, K. A. ; HAMILTON, J.K. ; REBERS, P.A. ; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem., Washington, V 28, p. 350-356, 1956.
52. DUDA, A.C. ; STEVENS, E.S. Solution conformation of (1→4) - β -D-mannan from optical rotation. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 228, p. 333-338, 1992.
53. DUTTON, G.G.S. ; HUNT, K. The constitution of the hemicellulose of sitk spruce (*Picea sitchensis*). II Structure of the mannan portion. J. Am. Chem., Soc., Washington, V. 80, p. 5697 - 5701, 1958.
54. EL KHADEM, H. ; SALLAM, M.A.E. The carbohydrate component of the doum-palm kernel : characterization and identification of a mannan. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 4, p. 387-391, 1967.

55. ENRIQUES, L.G. ; HWANG, J.W. ; HONG, G.P. ; BATI, N.A. ; FLINN, G.O. Plant and microbial food gums, In: CHARALAMBOUS, G. ; DOXASTAKIS, G. Food emulsifiers : chemistry, technology, functional properties and applications. Amsterdam : Elsevier, 1989.

56. FERNANDES, P.B. ; GONÇALVES, M.P. ; DOUBLIER, J.L. Rheological behaviour and sol-gel transition of galactomannan/kappa-carrageenan blends. In. PHILLIPS, G.O., WEDLOCK, D.J. ; WILLIAMS, P.A. Gums and stabilizers for the food industry-6. Oxford : IRL Press, 1992. p. 181 - 190.

57. FERNANDES, P.B. ; GONÇALVES, M.P. ; DOUBLIER, J.L. A rheological characterization of kappa carrageenan/galactomannan mixed gels: a comparison of locust bean gum samples. Carbohydr. Polym., Barking, V. 16, p. 253-274, 1991.

58. FERNANDES, P.B. ; GONÇALVES, M.P. ; DOUBLIER, J.L. Effect of galactomannan addition on the thermal behaviour of k-carrageenan gels. Carbohydr. Polym., Barking, V. 19, p. 261-269, 1992.

59. FERNANDES, P.B. ; GONÇALVES, M.P. ; DOUBLIER, J.L. Phase diagrams in kappa-carrageenan/locust bean gum systems. Food Hydrocolloids, Oxford , V.5, p. 71-73, 1991.

60. FRANCO, A.B. ; ARGÁEZ, A.G. ; GUZMAN, J.M. ; AMADOR, M.C.P. ; JIMÉNEZ, F.G. Aislamiento y caracterización del galactomanano de semillas de *Turbina corymbosa* (L) Raf y de *Ipomoea murucoides* Roem & Schult (Convolvulaceae), Phyton, Buenos Aires , V. 51(2), p. 103-106, 1990.

61. FRENCH, S.J. ; HILL, M.A. High fibre foods ; a comparison of some baked products containing guar and pectin J. Plant Foods, V. 6, p. 101-109, 1985.

62. GANTER, J.L.M.S. ; MILAS, M. ; CORRÊA, J.B.C. ; REICHER, F. ; RINAUDO, M. Study of solution properties of galactomannan from the seeds of *Mimosa scabrella* Carbohydr. Polym., Barking, V. 17, p. 171-175, 1992.

63. GANTER, J.L.M.S. ; ZAWADZKI-BAGGIO, S.F. ; LEITNER, S.C.S , SIERAKOWSKI, M.R. ; REICHER, F. Structural studies on galactomannans from Brazilian seeds. J. Carbohydr. Chem.
Aceita a publicação.
64. GIBBONS, R.A. Polydispersity. Nature (Lond). London, V. 200, p. 665-666, 1963.
65. GOLDSTEIN, A.M. ; ALTER, E.N. , SEAMAN, J.K. Guar gum. In: WHISTLER, R.L. Industrial gums. New York : Academic Press, 1973. p. 303-321.
66. GORIN, P.A.J. ; MAZUREK, M. Further studies on the assignment of signals in ^{13}C magnetic resonance spectra of aldoses and derived methyl glycosides. Can. J. Chem., Ottawa, V. 53, p. 1212 - 1223, 1975.
67. GORIN, P.A.J. ; MAZUREK, M. ; SPENCER, F.T. Proton magnetic resonance spectra of *Trichosporon aculeatum* mannan and its borate complex and their relationship to chemical structure. Can. J. Chem., Ottawa, V. 46, p. 2305- 2310 , 1968.
68. GORIN, P.A.J. ; BARRETO-BERGTER, E. The chemistry of polysaccharides of fungi and lichens. In: ASPINALL, G.O. The Polysaccharides. New York : Academic Press, 1983. V. 2 p. 366-409.
69. GORIN, P.A.J. ; HORITSU, K. ; SPENCER, J.F.T. An exocellular mannan, alternately linked 1,3- β and 1,4- β from *Rhodotorula glutinis*. Can. J. Chem., Ottawa, v. 43, p. 950-954, 1965.
70. GORIN, P.A.J. ; IACOMINI, M. Polysaccharides of the lichens *Cetraria islandica* and *Ramalina usnea*. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 128, p. 119 - 132, 1984.
71. GRASDALEN, H. ; PAINTER, T. N.m.r. studies of composition and sequence in legume seed galactomannans. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 81, p. 59 - 66, 1980.

72. GUPTA, A.K. ; GRASDALEN. H. N.m.r. studies of composition and side - chain arrangement in *Sesbania aegyptiaca* seed galactomannan Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 188, p. 239-244, 1989.
73. GUPTA, A.K. ; BE MILLER, J.N. A galactomannan from *Crotalaria medicaginea* seeds. Phytochemistry (Oxf), Oxford, V. 29(3), p. 853-855, 1990.
74. GUPTA, A.K. ; BOSE, S. Structure of the D-galacto -D-mannan isolated from the seeds of *Melilotus indica* All. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 153, p. 69-77, 1986.
75. GUPTA, D.S. ; JANN, B. ; BAJPAI, K.S. ; SHARMA, S.C. Structure of a galactomannan form *Cassia alata* seed. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 162, p. 271-276, 1987.
76. GUPTA, O.C.D. ;GUPTA, R. ; SRIVASTAVA, V.P. ; GUPTA, P.C. Structure of a new galactomannan from the seeds of *Ipomoea fistula*. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 73. p. 145-150, 1979.
77. GUTHRIE, R.D. Periodate oxidation. Methods Carbohydr. Chem., New York, V. 1, p. 432 - 435, 1962.
78. HARTREE, E.F. Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. Anal. Biochem., Duluth V. 48, p. 422-427, 1972
79. HIRST, E.L. ; PERCIVAL, E. Methylation of polysaccharides and fractionation of the methylated products. Methods Carbohydr. Chem., New York, V. 5, p. 287 - 298, 1960.
80. HIRST, E. L. ; REES, D.A. ; RICHARDSON, N.G. Seed polysaccharides and their role in germination. Biochem. J., London, V. 95, p. 453-458, 1965.
81. HOFFMAN. J. ; LINDBERG, B. Oxidation of acetylated carbohydrates with chromium trioxide in acetic acid. Methods Carbohydr. Chem., New York, V. 8 , p. 117 - 122, 1980.

82. HOFFMAN, J. ; SVENSSON, S. Studies of the distribution of the D-galactosyl side - chains in guaran Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 65, p. 65 - 71, 1978.
83. HOFFMAN, J. ; LINDBERG, B. ; PAINTER, T. The distribution of the D-galactose residues in guaran and locust bean gum. Acta Chem. Scand., Copenhagen, V. 30B, p. 365 -366, 1976.
84. HOPF, H. ; KANDLER, O. Characterization of the reserve cellulose of the endosperm of *Carum carvi* as a β -(1 \rightarrow 4)-mannan. Phytochemistry (Oxf), Oxford, V. 16, p. 1715-1717, 1977..
85. HSIA, H.Y. ; SMITH, D.M. ; STEFFE, J.F. Rheological properties and adhesion characteristics of flour based batters for chicken-nuggets as affected by three hydrocolloids. J Food Science, Chicago, V. 57, p. 16-24, 1992.
86. ISHAK, M.F. ; PAINTER, T. The anomalous periodate oxidation limit of guaran. Acta Chem Scand., Copenhagen, V. 27, p. 1268 - 2276, 1973.
87. IWAMOTO, K. ; KATO, T. , KAWAHARA, M. ; KOYAMA, N. , WATANABE, S. ; MIYAKE, Y. ; SUNAMOTO, J. Polysaccharide - coated oil droplets in oil - in - water emulsions as targetable carriers for lipophilic drugs J. Pharm Sciences, Washington, V. 80 , p. 219 - 224, 1991.
88. JANSON, J. ; LINDBERG, B. Formation of methyl α -L-arabinopyranoside on alkaline treatment of methyl α -L-arabinofuranoside. Acta Chem. Scand., Copenhagen, V. 36B, p. 277-279, 1982.
89. JIANG, K.S. ; TIMELL, T.E. Polysaccharides in the bark of aspen (*Populus tremuloides*). II. Isolation and structure of an arabinan. Cellulose Chem. Tecnol., V. 6, p. 499 - 502, 1972.
90. JONES, J.K.N. The structure of the mannan present in *Porphyra umbilicalis* J Chem. Soc. (Lond), London, p. 3292 - 3295, 1950.

91. JOSELEAU, J. P. ; CHAMBAT, G ; LANVERS, M. Arabinans from the roots of horse bean (*Vicia faba*). Carbohydr. Res., Amsterdam V. 122, p. 107-113, 1983.
92. JOSELEAU, J.P. ; CHAMBAT, G. ; VIGNON, M. ; BARNOUD, F. Chemical and ^{13}C .n.m.r. studies on two arabinans from the inner bark of young stems of *Rosa glauca* Carbohydr. Res., Amsterdam V. 58, p. 165 - 175, 1977.
93. KALETUNC - GENCER, G. ; PELEG, M. Rheological characteristics of selected food gum mixtures in solution. J. Text. Studies, Trumbull, V. 17 , p. 61 - 70, 1986.
94. KAPOOR, V.P. ; SEN, A.K. ; FAROOQI, M.I.H. Structure of dhaincha galactomannan from the seeds of *Sesbania bispinosa*. Indian. J. Chem., New Dehli, V. 28B, p. 928 -933, 1989.
95. KARACSONY, S. ; TOMAN, R. ; JANECEK, F. ; KABACKOVA, M. Polysaccharides from the bark of the white willow (*Salix alba L.*). Structure of an arabinan. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 44, p. 285 - 290, 1975.
96. KAUP, S.M. ; GREGER, J.L. ; LEE, K. Nutritional evaluation with an animal model of cottage cheese fortified with calcium and guar gum. J. Food Science, Chicago , V. 56, p. 692 - 695, 1991.
97. KESAVAN, S. ; PRUD' HOMME, R. Rheology of guar and HPG cross-linked by borato. Macromolecules, V. 25, p. 2026 - 2032, 1992
98. KIRCHER, H.W. Gas - liquid partition chromatography of sugar derivatives. Meth Carbohydr. Chem., New York, V. 1, p. 13 - 20, 1962.
99. KOOIMAN, P. The relation between monosaccharide composition and specific optical rotation of galactomannans from plant seeds. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 25, p. 1 - 9, 1972.

100. KOOIMAN, P. Structures of the galactomannans from seeds of *Annona muricata*, *Arenga saccharifera*, *Cocos nucifera*, *Convolvulus tricolor* and *Sophora japonica* Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 20, p. 329 - 337, 1971

101. KUMAR, P. ; SINGH, V ; MISHRA, V C. ; GUPTA P C A water - soluble polysaccharide isolated from seeds of *Cassia ovata*. Carbohydr. Res., V. 198, p. 384 - 386, 1990.

102. LEITNER, S.C.S. Estudo de polissacarídeos da semente de *Stryphnodendron barbatiman* (barbatimão). Curitiba, 1991. Dissertação (mestrado em Bioquímica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

103. LESCHZINER, C. ; CEREZO, A.S. The structure of a galactomanna from the seed of *Gleditsia triacanthos*. Carbohydr. Res., Amsterdam , V. 15, p. 291 - 299, 1970.

104. LESCHZINER, C. ; CEREZO, A.S. Correlation of chemical composition and optical rotation of water - soluble galactomannans. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 11, p. 113 - 118, 1969.

105. LINDBERG, B. Methylation analysis of polysaccharides In: GINSBURG, V. Methods. Enzym. New York : Academic Press, 1972. V. 28, p. 178 - 195.

106. LOVE, J. ; PERCIVAL, E. The polysaccharides of the green seaweed *Codium fragile*. Part III. A β -1,4-linked mannan. J. Chem. Soc. (Lond), London, p. 3345 - 3350, 1964.

107. MAINIERI, C. , CHIMELO, J.P. Fichas de características das madeiras brasileiras. São Paulo . IPT, 1989. p. 193.

108. MANNION, R.O. ; MELIA, C.D. ; LAUNAY, B. ; COVELIER, G. , HILL, S.E. , HARDING, S.E. , MITCHELL, J.R Xanthan/locust bean gum interaction at room temperature. Carbohydr. Polym., Barking, V. 9, p. 91 - 97, 1992

109. MANZI, A.E. ; CEREZO A.S. , SHOOOLERY, J. High resolution ^{13}C -n.m.r spectroscopy of legume - seed galactomannans. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 148, p. 189 - 197, 1986.
110. MANZI, A. E. ; MAZZINI, M. N. ; CEREZO, A. S. The galactomannan system from the endosperm of the seed of *Gleditsia triacanthos*. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 125, p. 127-143, 1984.
111. MARCHESSAULT, R.H. ; SARKO, A. X-Ray structure of polysaccharides. Adv. Carbohydr. Chem., New York, V. 22, p., 421 - 482, 1967.
112. MAZZINI, M.N. ; CEREZO, A.S. The carbohydrate and protein composition of the endosperm, embryo and testa of the seed of *Gleditsia triacanthos*. J. Sci. Food Agric., V. 30, p. 881 - 891, 1979.
113. MAZZINI, M.N. ; CEREZO, A.S. Galactomannan - protein complexes from the seed of *Gleditsia triacanthos* Anales Asoc. Quím. Argentina, Buenos Aires, V. 70, p. 289 - 294, 1982.
114. McCLEARY, B.V. ; MATHESON, N.K. Galactomannan structure and β -mannosidase activity in germinating legume seeds. Phytochemistry (Oxf), Oxford, V. 14, p. 1187-1194, 1975.
115. McCLEARY, B.V. Enzymic hydrolysis, fine structure, and gelling interaction of legume-seed D-galacto -D-mannans. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 71, p. 205 - 230, 1979.
116. McCLEARY, B.V. ; CLARK A.H. ; DEA, I.C.M. ; REES, D.A. The fine structures of carob and guar galactomannans. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 139, p. 237 - 260,, 1985.
117. McCLEARY, B.V. ; AMADO, R. ; WAIBEL, R. , NEUKOW, H. Effect of galactose content on the solution and interaction properties of guar and carob galactomannans. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 92, p. 269 - 285, 1981.
118. McCLEARY, B.V. ; NEUKOW, H. Effect of enzymic modification on the solution and interaction properties of galactomannans. Prog. Food. Nutr. Sci., New York, V. 6, p. 109-118, 1982.

119. MEIER, H. On The structure of cell walls and cell wall mannans from ivory nuts and from dates.
Biochim. Biophys. Acta, Amsterdam, V 28, p. 229 - 240, 1958.

120. MEIER, H. Barium hydroxide as a selective precipitating agent for hemicelluloses. Acta Chem Scand., Copenhagen, V. 12, p. 144 - 146, 1958.

121. MURALIKRISHNA, G. ; THARANATHAN, R.N. Structural features of an arabinan from cowpea (*Vigna sinensis*). Food Chemistry, Barking , v. 22, p. 245 - 250, 1986.

122. NOBLE, O. ; TARAVEL, F.R. Complex formation between guar D-galacto-D-mannan and borate ion. Thermodynamic data. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 184, p. 236 - 243, 1988.

123. NOBLE, O. ; TARAVEL, F.R. Rheological properties of galactomannan based gels. Part 2 - Ion cross - linked galactomannan gels. Carbohydr. Polym., Barking, V. 12, p. 279 - 293, 1990.

124. NOBLE, O. ; TURQUOIS, T. ; TARAVEL, F.R. Rheological properties of galactomannan based gels Part I - guar and hydroxypropyl guar gels in alkaline media. Carbohydr. Polym., Barking, V. 12, p. 203 - 217, 1990

125. NOBLE, O. ; PEREZ, S. ; ROCHAS, C. ; TARAVEL, F.R. Optical rotation of branched polysaccharides. Polym. Bulletin, V. 16, p. 175 - 180, 1986.

126. OLIVEIRA, E.C. ; PEREIRA, T.S. Morfologia dos frutos alados em leguminosac -*Caesalpinoideae* - *Martiodendron* Gleason, *Peltophorum* (Vogel) Walpers, *Sclerobium* Vogel, *Tachigalia* Aublet e *Schizolobium* Vogel. Rodriguesia, Rio de Janeiro, V. 36, p. 35 - 42, 1984.

127. PERCIVAL, E. The natural distribution of plant polysaccharides. In: SWAIN, T. Comparative Phytochemistry. London Academic Press, 1966. p. 139 - 155.

128. PEZRON, E. ; RICARD, A. ; LAFUMA, F. ; AUDEBERT, R. Reversible gel formation induced by ion complexation I-borax-galactomannan interactions Macromolecules, V. 21, p. 1121 - 1125, 1988.

129. PEZRON, E. ; RICARD, A. ; LEIBLER, L. Rheology of galactomannan-borax gels. J. Polym. Science. Part B. Polymer Physics, Washington , V. 28, p. 2445 - 2461, 1990.

130. PILNIK, W. ; ROMBOUTS, F.M. Polysaccharides and food processing. XIIth International Carbohydrate Symposium, Utrecht, 1-7 July, 93 - 105, 1984

131. POLGLASE, W.J. Polysaccharides associated with wood cellulose Adv. Carbohydr. Chem., New York, V. 10, p. 283 - 333, 1955

132. PRABHANJAN, H. ; GHARIA, M.M. ;SRIVASTAVA, H.C. Guar gum derivatives. Part I. Preparation and properties. Carbohydr. Polym., Barking , V. , p. 279 - 292, 1989.

133. RAE, A.L. ; HARRIS, P.J. ; BACIC, A. ; CLARKE, A E Composition of the cell walls of *Nicotiana glauca* Link et otto pollen tubes. Planta, Heidelberg , V. 166, p. 128 - 133, 1985.

134. RAO, C.V.N. ; MUKHERJEE, A.K Constitution of a mannan from the kernel of palmyra palm nut. J. Indian Chem. Soc., Calcutta , V. 39, p. 711 - 716, 1962

135. RECHIA, C.G.V. Estudo de polissacarídeos da semente de *Senna multijuga* Curitiba, 1992 Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

136. REES, D.A. Shapely polysaccharides. Biochem. J., London V. 126, p. 257-273, 1972

137. REES, D.A. ; RICHARDSON, N G Polysaccharides in germination occurrence, fine structure and possible biological role of the pectin araban in white mustard cotyledons. Biochemistry, Washington , V. 5, p. 3099 - 3107, 1966.

138. REES, D.A. ; STEELE, I.W. Polysaccharides in germination. Physical characterization of the pectic araban of white mustard cotyledons. Biochemistry, Washington, V. 5 , p. 3108 - 3110, 1966.

139. REICHER, F. ; LEITNER, S.C.S. ; SIERAKOWSKI, M.R. ; FONTANA, J. D. ; CORREA, J.B.C. Seed gum of *Stryphnodendron barbatiman* (barbatimão). Appl. Biochem. Biotechnol, Clifton, V. 28/29, p. 353 - 361, 1991.

140. REICHER, F. ; LEITNER, S.C.S. ; SIERAKOWSKI, M.R. ; FONTANA, J.D. ; CORREA, J.B.C. Properties of the seed gum of *Stryphnodendron barbatiman* Appl. Biochem. Biotechnol., Clifton, V. 34/35, p. 349 - 357, 1992.

141. REID, J.S.G. Reserve carbohydrate metabolism in germinating seeds of *Trigonella foenum - graecum* L. (Leguminosae). Planta, Heidelberg , V. 100, p. 131 - 142, 1971.

142. REID, J.S.G. Cell wall storage carbohydrates in seeds : Biochemistry of the seed "gums" and "hemicelluloses" Adv. Bot. Res., New York , V. 11, p. 125 - 155, 1985.

143. REID, J.S.G. ; BEWLEY, J.D. A dual rôle for the endosperm and its galactomannan reserves in the germinative physiology of fenugreek (*Trigonella foenum - graecum* L),an endospermic leguminous seed. Planta, Heidelberg, V. 147(2), p. 145 - 150, 1979.

144. REID, J.S.G. ; MEIER, H. Enzymic activities and galactomannan mobilisation in germinating seeds of fenugreek (*Trigonella foenum - graecum* L).(Leguminosae). Planta, Heidelberg, V. 112, p. 301 - 308, 1973.

145. REID, J.S.G. ; MEIER, H. Formation of reserve galactomannan in the seeds of *Trigonella foenum - graecum*. Phytochemistry (Oxf), Oxford, V. 9, p. 513 - 520, 1970.

146. RIBEIRO, V.M.L. ; COSTA, E.L. ; BARROSO, M.A.L. Catálogo de nomes científicos e vulgares de plantas de porte arbóreo ocorrentes no Brasil. *Rodriguésia*. Revista do Jardim Botânico, Rio de Janeiro, V. 49, p 189, 1979
147. RIZVI, S.A.I ; GUPTA, P.C. ; KAUL, R K. The structure of a galactomannan from the seeds of *Cassia nodosa* Planta Med., Stuttgart, V. 20(1), p. 24 - 32, 1971.
148. RIZZINI, C.T. Árvores e madeiras úteis do Brasil. São Paulo : Edgar Blucher, 1986 . p. 133 - 136.
149. ROBIC, D. ; PERCHERON, F. Structure de la mannane du palmier *Erythea edulis*. Phytochemistry (Oxf), Oxford, V. 12, p. 1369 - 1372, 1973.
150. ROBINSON, G. ; ROSS - MURPHY, S.B. ; MORRIS, E.R. Viscosity - molecular weight relations, intrinsic chain flexibility, and dynamic solution properties of guar galactomannan, Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 107, p. 17 - 32, 1982.
151. ROCHAS, C. ; TARAVEL, F.R. ; TURQUOIS, T. N.m.r. studies of synergistic kappa carrageenan - carob galactomannan gels. Int. J. Biol. Macromol., Guildford, V. 12, p. 353-358, 1990.
152. ROL, F. Locust bean gum. In: WHISTLER, R.L. Industrial gums. New York : Academic Press, 1973. p. 323 - 326.
153. SANDFORD, P.A. ; BAIRD, J. Industrial utilization of polysaccharides. In ASPINALL, G.O. The polysaccharides. New York : Academic Press, 1983. p. 411 - 490.
154. SAWARDEKER, J.S. ; SLONEKER, J.H. ; JEANES, A. Quantitative determination of monosaccharides as their alditol acetates by gas liquid chromatography. Anal. Chem., Washinton, V. 37, p. 1602 - 1604, 1965.

155. SEN, A.K. ; BANERJEE, N. ; FAROOQ, M.I. A water-soluble galactomannan from the seeds of *Indigofera tinctoria* Linn. Carbohydr. Res., Amsterdam, V 157, p. 251 - 256, 1986.
156. SEN, A K. ; SARKAR, K.K. ; BANERJEE, N. ; FAROOQI, M.H. Structural investigation of a water-soluble galactomannan from the seeds of *Cassia alata* Linn. Indian J. Chem., New Dehli , V. 26B, p. 21 - 25, 1987.
157. SETH, R.P. ; MUKHERJEE, S. ; VERMA, S.D. Investigations on partial structure of galactomannan "A" from *Cassia renigera* seed. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 125, p. 336 - 339, 1984.
158. SHARMAN, W.R. ; RICHARDS, E.L. ; MALCOLM, G.N. Hydrodynamic properties of aqueous solutions of galactomannans. Biopolymers, New York, V. 17, p. 2817 - 2833, 1978.
159. SHATWELL, K.P. ; SUTHERLAND, I.W. ; ROSS - MURPHY, S.B. , DEA, I.C.M. Influence of the acetyl substituent on the interaction of xanthan with plant polysaccharides .I. Xanthan - locust bean gum systems. Carbohydr. Polym., Barking, V. 14, p. 29 - 51, 1991
160. SHCHERBUKHIN, V.D. Galactomannans from seeds of the Soviet Union. Food Hydrocolloids., Oxford, V. 6, p. 3 - 7, 1992.
161. SIDDIQUI, I.R. ; WOOD, P.Y. Structural investigation of exalate soluble rapessed (*Brassica compes-tris*) polysaccharides. Part III. An arabinan. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 36, p. 35 - 44, 1974.
162. SIMÕES, J.C. ; SERRUYA, H. ; VAN DEN BERG, M.E. ; LUNA, M.S. Estudo químico prévio de leguminosas da Amazônia. Anais 1º e 2º encontro de profissionais da química da Amazônia. CRQ da 6ª Região. Belém/junho, 1980, São Luis/junho, 1981.
163. SLONEKER, J.H. Gas-Liquid chromatography of alditol acetates. Methods Carbohydr. Chem. New York, V. 6, p. 20 - 24, 1972.

164. SMITH, F. ; MONTGOMERY, R. The chemistry of plant gums and mucilages. New York , Reinhold Publishing Corporation, 1959. 553 p.
165. SONI, S.K. ; BOSE, S. Seed galactomannans & their structures. J. Scient. Industr. Res., New Dehli, V. 44, p. 544 - 547, 1985.
166. SOWA, W. ; JONES, J.K.N. Polysaccharides from the seeds of the huacra pona palm. (*Iriartea ventricosa*). Can. J. Chem., Ottawa, V. 42, p. 1751 - 1754, 1964.
167. STAUB, A.M Removal of proteins Sevag method Meth. Carbohydr. Chem., New York, Academic Press, 1983. p. 98 - 180.
168. STEPHEN, A M Other plant polysaccharide In: ASPINALL, G O The polysaccharide V 2 New York, Academic Press, 1983. p. 98 - 180.
169. STEVENS, B.J.H. ; SELVENDRAN, R.R. Structural investigation of an arabinan from cabbage (*Brassica oleracea*, var. Capitata). Phytochemistry (Oxf), Oxford, V. 19, p. 559 -561, 1980
170. SUNAMOTO, J. ; SATO, T. ; TAGUCHI, T. ; HAMAZAKI, H. Naturally occurring polysaccharide derivatives which behave as an artificial cell wall as an artificial cell liposome. Macromolecules, V. 25, p. 5665 - 5670, 1992.
171. SWAMY, N.R. ; SALIMATH, P.V. Arabinans from *Cajanus cajan* cotyledon. Phytochemistry (Oxf), Oxford, V. 30(1), p. 263 - 265, 1991.
172. TAKO, M. ; NAKAMURA, S. Synergistic interaction between xanthan guar gum Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 138, p. 207 - 213, 1985.
173. TAKO, M. ; NAKAMURA, S. D-mannose-specific interaction between xanthan and D-galacto-D-mannan. F.E.B.S. Letters, Amsterdam, V. 204, p. 33 - 36, 1986.

174. TEWARD, K. ; KHARE, N. , SINGH, V. ; GUPTA, P.C. A non-sonic seed-gum from *Cassia corymbosa*. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 135, p. 141 - 146, 1984.

175. TIMELL, T.E. Vegetable ivory as a source of a mannan polysaccharide. Can. J. Chem., Ottawa, V. 35, p. 333-338, 1975.

176. TIMELL, T.E. Wood hemicelluloses : Part II. Adv. Carbohydr. Chem., New York, V. 20, p. 410 - 483, 1965.

177. TOMODA, M. ; TAKAHASHI, M. ; NAKATSUKA, S. Water - soluble carbohydrates of *Zizyphi fructus*. II. Isolation of two polysaccharides and structure of an arabinan Chem. Pharm. Bull., Tokio V. 21(4), p. 707-711, 1973.

178. TURQUOIS, T. ; ROCHAS, C. ; TARAVEL, F.R. Rheological studies of synergistic kappa carrageenan - carob galactomannan gels. Carbohydr. Polym., Barking, V. 17, p. 263 - 268, 1992.

179. UNRAU, A.M. ; CHOY, Y.M. Identification of linkages of a galactomannan isolated from seeds of *Caesalpinia pulcherrima*. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 14, p. 151 - 158, 1970.

180. VAN DER SLOOTEN, H.J. Plano de trabalho para avaliação da madeira de "*Schizolobium amazonicum*". FAO/BRA 45.

181. WATANABE, T. ; INABA, K. ; NAKAI, A. ; MITSUNAGA, T. ; OHNISHI, J. ; KOSHIJIMA, T. Water - soluble polysaccharides from the root of *Pinus densiflora*. Phytochemistry (Oxf), Oxford, V. 30, p. 1425 - 1429, 1991.

182. WHISTLER, R.L. Factors influencing gum costs and applications In: _____. Industrial Gums. New York : Academic Press, 1973. p. 2 - 18.

183. WHISTLER, R L , CORBETT, W M Polysaccharides(1) General aspects and phyto and microbial polysaccharide. In: PIGMAN, W. The carbohydrates. Chemistry, biochemistry, physiology. New York : Academic Press, 1957. p 641 - 708.

184. WHISTLER, R.L. ; RICHARDS, E.L. Hemicelluloses In. PIGMAN, W. ; HORTON, D. The carbohydrate Chemistry and Biochemistry. New York : Academic Press, 1970. p. 447 - 467.

185. WHISTLER, R.L.; SAARNIO, J. Galactomannan from soy bean hulls. J. Am.Chem. Soc., Washington, V. 79, p. 6055 - 6057, 1957.

186. WHISTLER, R.L. ; SMART, C.L. Polysaccharide chemistry. New York : Academic Press, 1953. p. 292 - 301.

187. WILLIAMS, P. A. ; DAY, D.H. ; LANGDON, M.J. ; PHILLIPS, G.O. ; NISHINARI, K. Synergistic of xanthan gum with glucomannans and galactomannans Food Hydrocolloids, Oxford, V. 4(6), p. 489 - 493, 1991.

188. WOLFROM, M.L. ; LAVER, M.L. ; PATIN, D.L. Carbohydrates of the coffee bean. II. Isolation and characterization of a mannan. J. Org. Chem., Washington, V. 26, p. 4533 - 4535, 1961.

189. WOLFROM, M.L. ; THOMPSON, A. Reduction with sodium borohydride. Methods. Carbohydr. Chem., New York, V. 2, p. 65 - 68, 1963.

190. WOLFROM, M.L. ; THOMPSON, A. Acetylation. Methods. Carbohydr. Chem., New York, V. 2, p. 211 - 215, 1963.

191. ZAWADZKI - BAGGIO, S.F. ; SIERAKOWSKI, M.R. ; CORRÊA, J.B C. ; REICHER, F. A linear (1→5) - linked α -L-arabinofuranan from the seeds of guapuruvu (*Schizolobium parahybum*). Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 233, p. 265 - 269, 1992.

192. YALPANI, M. Polysaccharides. Syntheses, modification and structure/property relations. Amsterdam: Elsevier, 1988. p. 407 - 462.
193. YUI, T. ; OGAWA, K. ; SARKO, A. Molecular and crystal structure of konjac glucomannan in the mannan II polymorphic form. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 229, p. 41 - 45, 1992.
194. YUI, T. ; OGAWA, K. ; SARKO, A. Molecular and crystal structure of the regenerated form of (1→3)- α -D-mannan. Carbohydr. Res., Amsterdam, V. 229, p. 57 - 74, 1992.